17. SHORT OUTLINE OF THE PROCEDURE / TESTKURZANLEITUNG / RESUME DE LA PROCEDURE / RESUMEN BREVE DEL PROCEDIMIENTO / BREVE ILLUSTRAZIONE DELLA PROCEDURA



100 ml blank solution, calibrators, control and 1:10 diluted samples/BLANK-Lösung, Standards, Kontrolle und 1:10 verdünnte Patientprobe/solution de blanc, des calibreurs, du contrôle et des échantillons de patient dilués (1:10)/de solución blanco, los calibratores, el control y las muestras de pacientes diluidas (1:10)/del bianco, i calibratori, il controllo e i campioni paziente diluiti (1 a 10)



60 min, 37 °C



3 x 350 ml (1:10) washing buffer/ Waschpuffer/ solution de lavage/ tampón de lavado/ tampone di lavaggio



100 ml conjugate solution/ Konjugatlösung/ conjugue/ solución conjugada/ soluzione coniugata



30 min, 37 °C



3 x 350 ml (1:10) washing buffer/Waschpuffer/ solution de lavage/ tampón de lavado/ tampone di lavaggio



100 ml substrate solution/ Substratlösung/ substrat/ solución de substrato/ soluzione di substrato



30 min, 20-25 °C



100 ml Stop Solution/Stoplösung/Solution d' arrêt/Soluzione di arresto



450 nm within/bei/dans les/dentro de/entro 30 min

400 329-01

BIOHIT diagnostics



Biohit Plc.
Laippatie 1
FIN-00880 Helsinki, Finland
Tel: +358-9-773 861
Fax: +358-9-773 86290
E-mail: info@biohit.com
www.biohit.com

Biohit Plc

PEPSINOGEN I

INSTRUCTIONS FOR USE

REF 601010.01 IVD



EXPLANATION OF THE SYMBOLS USED IN LABELS / ERKLÄRUNG UTILISES SUR LES ETIQUETTES / EXPLICACIÓN DE LOS SÍMBOLOS

	English	**Deutsch**	
IVD	For *in vitro* diagnostic use	Für *in vitro* diagnostische Zwecke	Pou *vitro*
REF	Catalogue number	Artikelnummer	Nun
LOT	Batch code	Chargennummer	Cod
	Use by	Haltbar bis	Util
i	Consult instructions for use	Beachten Sie die Testanleitung	Con d'ut
+ 2…8 °C	Temperature limitation Store at +2...+8 °C	Temperaturempfindlich, Lagerung bei + 2..8°C	Lim Con
96	96 determinations	Für 96 Bestimmungen	96 t
2	Do no re-use	Nach Gebrauch, nicht mehr wiederverwenden	Ne p
WASH 10 x	Washing buffer concentrate (10x)	Waschpufferkonzentrat (x10)	Solu conc
DILBUF	Diluent buffer	Verdünnungspuffer	Tam
BLANK	Blank solution	BLANK-Lösung	Solu
CAL 1	Calibrator (1-3)	Standard (1-3)	Cali
CONTROL	Control	Kontrollen	Con
CONJ	Conjugate solution	Konjugatlösung	Solu
SUBS	Substrate solution	Substratlösung	Solu
STOP	Stop solution	Stopplösung	Solu

DER SYMBOLE AUF ETIKETTEN / EXPLICATION DES SYMBOLES
UTILIZADOS EN LAS ETIQUETAS

Français	Español	Italiano
e diagnostique *in*	Para uso diagnóstico *in vitro*	Per l'uso diagnostico *in vitro*
ro de Catalogue	Número de catálogo	Numero di catalogo
du lot	Código de lote	Codice lotto
er avant	Fecha de vencimiento	Utilizzare entro
lter la notice isation	Consultar instrucciones de uso	Consultare le instuzioni d'uso
es de Température rver à +2...+8 °C	Límite de temperature. Almacenar entre +2 a +8°C	Limiti di temperatura, Conservare a +2…+8 °C
ts	96 determinaciones	96 determinazioni
s réutiliser	No volver a utilizar	Non riutilizzare
on de lavage ntre (10x)	Concentrado de tampon de lavado (x10)	Concentrato di tampone di lavaggio
on de dilution	Tampón diluyente	Tampone di diluizione
on de blanc	Solución blanco	Bianco
eurs	Calibradores	Calibratori
ôle	Control	Controllo
on de conjugué	Solución conjugada	Soluzione coniugata
on de substrat	Solución de sustrato	Soluzione di substrato
on d'arrêt	Solución de interrupción	Soluzione di arresto

PEPSINOGEN I

REF 601010.01

Instructions for use 5
Testanleitung 17
Notice d'utilisation 29
Instrucciones de uso 41
Instruzioni per l'uso 53

References / Literaturhinweis / Referencias / Bibliografia 65

Ordering Information / Bestellinformationen / Informations Commerciales / información De Pedido / Informazioni Per Le Ordinazioni 67

NOTES:

RUSSIA
Biohit OOO
Tel: +7-812-327 5327
Fax: +7-812-327 5323
E-mail: main@biohit.ru

U. K.
Biohit Ltd.
Tel. +44-1803 315 900
Fax: +44-1803 315 530
E-mail: info@biohit.co.uk

U. S. A.
Biohit. Inc.
Tel: +1-732-922-4900
Fax: +1-732-922-0557
E-mail: customersvc.usa@biohit.com (pipet@biohit.com)

INSTRUCTIONS FOR USE

Pepsinogen I ELISA — Cat. No. 601 010.01

CONTENTS — Page

1. INTENDED USE 6
2. CLINICAL BACKGROUND 6
3. PRINCIPLE OF THE TEST 6
4. WARNINGS AND PRECAUTIONS 7
5. SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING 7
6. KIT CONTENTS, REAGENT PREPARATION AND STABILITY FOR MATERIALS PROVIDED 8
  6.1. Microplate 8
  6.2. Washing Buffer Concentrate (x 10) 8
  6.3. Diluent Buffer 8
  6.4. Blank Solution 8
  6.5. Calibrators 8
  6.6. Control 9
  6.7. Conjugate Solution 9
  6.8. Substrate Solution 9
  6.9. Stop Solution 9
  6.10. Incubation Covers 9
  6.11. Instruction Manual 9
7. MATERIALS REQUIRED, BUT NOT PROVIDED 9
8. STORAGE AND STABILITY 10
9. TEST PROCEDURE 10
10. RESULTS 11
  10.1. Quality Control Values 11
  10.2. Calculation of the Results 12
  10.3. Prevalence 13
  10.4. Interpretation of the Results 13
11. LIMITATIONS OF THE PROCEDURE 13
12. PERFORMANCE CHARACTERISTICS 13
13. DATE OF ISSUE 16
14. WARRANTY 16
15. REFERENCES 65
16. ORDERING INFORMATION 67
17. SHORT OUTLINE OF THE PROCEDURE 72

APPENDIX: QUALITY CONTROL CERTIFICATE

1. INTENDED USE

The pepsinogen I (PGI) kit is a microplate-based quantitative enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) for the determination of human pepsinogen I from serum or plasma samples.

2. CLINICAL BACKGROUND

This test is intended to identify patients who have an advanced atrophic gastritis in the gastric corpus and who, correspondingly, are at increased risk for gastric cancer (1, 2). The serum or plasma PGI (S-PGI, P-PGI) assay is a reliable tool for detecting patients with advanced atrophic corpus gastritis (3-6); the sensitivity and specificity of the test are 92 % and 90 %, respectively.

Pepsinogen I (PGI) is a precursor enzyme of pepsin and is synthesized by the chief cells and neck cells of the g astric corpus (from so-called oxyntic glands of the g astric mucosa). The major part of PGI is secreted into the gastric lumen but a small amount can be found in the blood. The S/P-PGI level reliably correlates with the number of chief cells in the gastric corpus mucosa. Correspondingly, the loss of chief cells results in a linear decrease in S/P-PGI. The loss of chief cells is, on the other hand, a result of atrophic gastritis.

For unknown reasons, atrophic gastritis increases the risk of gastric cancer, the risk being even 5-fold in patients with advanced atrophic gastritis in the corpus and even 90-fold in advanced atrophic pangastritis (both antrum and corpus affected) compared to the cancer risk in persons with normal gastric mucosa (2).

The screening of middle-aged (50-69 years) , smoking men in Finland with the S-PGI test has revealed that a low S-PGI level (<25 µg/l) is detected in 9.8 % of men of whom 4.7 % revealed either a gastric cancer or precancerous lesion by endoscopy (7). Corresponding results have also been published in earlier studies (8-17).

3. PRINCIPLE OF THE TEST

This PGI ELISA is based on a sandwich enzyme immunoassay technique with a PGI specific capture antibody adsorbed on a microplate and a detection antibody labeled with horseradish peroxidase (HRP).

The assay proceeds according to the following reactions:

1. A monoclonal antibody, specific to human PGI, on the polystyrene surface of the wells binds PGI molecules present in the sample.
2. Wells are washed to remove the residual sample.
3. An HRP-conjugated monoclonal detection antibody is added to the wells and it binds to the PGI molecules.

16. ORDERING INFORMATION/ BESTELLINFORMATIONEN/ INFORMATIONS COMMERCIALES /INFORMACIÓN DE PEDIDO / INFORMAZIONI PER LE ORDINAZIONI

Pepsinogen I ELISA kit / Pepsinogen I ELISA Test / Coffret ELISA Pepsinogène I/ Conjunto de prueba ELISA para Pepsinógeno I / Kit del test ELISA per pepsinogeno I.

Cat. No./ Artikel Nr. / Référence catalogue N° / Cat. N° / N. Cat. :601 010. 01.

Headquarters
Biohit Plc.
Laippatie 1
00880 Helsinki, Finland
Tel: +358-9-773 861
Fax: +358-9-773 86290
E-mail: info@biohit.com
www.biohit.com

CHINA
Finland Biohit Co., Ltd
Shanghai Representative Office
Tel: +86-21-62485589
Fax: +86-21-62487786
E-mail:info.china@biohit.com

FRANCE
Biohit S. A.
Tel: +33-1-3088 4130
Fax: +33-1-3088 4102
E-mail: commercial.france@biohit.com

GERMANY
Biohit Deutchland GmbH
Tel: +49-6003-82 820
Fax: +49-6003-828 222
E-mail: info@biohit.de

JAPAN
Biohit Japan Co., Ltd.
Tel: +81-3-5822 0021
Fax: +81-3-5822 0022
E-mail: sales@biohit.co.jp

serum pepsinogen I, II and of PG1/PGII ratios in a gastric cancer case-control study. J Epidemiol 1997; 7:143-151.
14. Kikuchi S, Wada O, Miki K, Nakajima T, Nishi T, Kobayashi O, Inaba Y. Serum pepsinogen as a new marker for gastric carsinoma among young adults. Research group on prevention of gastric carsinoma among young adults. Cancer 1994; 73:2695-2702.
15. Yoshihara M, Sumii K, Haruma K, Kiyohira K, Hattori N, Kitadai Y, Komoto K, Tanka S, Kajiyama G. Correlation of ratio of serum papsinogen I and II with prevalence of gastric cancer and adenoma in Japanese subjects. Am J Gastroenterol 1998; 93:1090-1096.
16. Farinati F, Di Mario F, Plebani M, Cielo R, Fanton MC, Valiante F, Masiero M, DeBoni M, Della Libera G, Burlin A. Pepsinogen A/Pepsinogen C or Pepsinogen A multiplied by gastrin in the diagnosis of gastric cancer. Ital J Gastroenterol 1991; 23:194-206.
17. Nomura AM, Stemmermann GN, Samloff IM. Serum pepsinogen I as a predictor of stomach cancer. Ann Intern Med 1980; 93:537-540.
18. Sipponen P, Ranta P, Helske T, Kääriäinen I, Mäki T, Linnala A, Suovaniemi O, Alanko A, Härkönen M. Serum levels of amidated gastrin-17 and pepsinogen I in atrophic gastritis: an observational case-control study. Scand J Gastroenterol 2002; 37:785-791.

4. The wells are washed and TMB-substrate is added. The substrate is oxygenized by the enzyme and a blue colored end product is produced.
5. The enzyme reaction is terminated with stop solution. The solution in the wells should turn yellow. The intensity of the yellowish color developed is directly related to the PGI concentration of the sample.

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

For *in vitro* diagnostic use

CAUTION: Handle serum and plasma samples as potential biohazardous material.

All samples should be regarded as potentially contaminated and treated as if they were infectious. Please refer to the U. S. department of Health and Human Services (Bethesda, MD., USA) publication Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 1999, 4th ed. (CDC/NIH) and No. (CDC) 88-8395 on reports of laboratory safety procedures on different diseases or any other local or national regulation.

This kit contains reagents manufactured from human blood components. The source materials provided in this kit have been tested for the presence of antibodies to hepatitis B and C as well as antibodies to HIV, and found to be negative. However, as no test method can offer absolute assurance that these pathogens are absent, all recommended precautions for the handling of a blood derivative should be observed.

Always use protective gloves when handling patient samples. Use a safety pipetting device for all pipetting. Never pipette by mouth. Read all instructions prior to performing this assay. All reagents provided in the kit can be disposed by pouring into a sink and flushing with an excess of tap water.

5. SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING

Fasting for 10 hours is recommended prior to blood sampling. Blood sample is collected by venipuncture into e.g. a plastic serum tube without additives, or EDTA or heparin tube. Blood tubes are mixed immediately by turning them upside down 5-6 times and tubes for serum allowed to clot (for minimum 30 minutes) at room temperature (20...25 °C). Serum after clotting and plasma immediately is separated by centrifugation (e.g. plastic tube, acceleration up to 2000 G, 10-15 minutes). Serum/plasma can be stored refrigerated (2...8 °C). For longer storage the samples should be stored frozen (preferably at -70°C, alternatively at -20 °C). Mix the samples thoroughly after thawing. Avoid repeated freezing and thawing of the samples. Grossly hemolysed, lipemic or turbid specimens should be avoided.

Please refer to Biohit Gastrin-17 ELISA instructions for use if testing the Biohit GastroPanel ELISA assays (Pepsinogen I, Pepsinogen II, Gastrin-17, *Helicobacter pylori IgG* antibodies) from the same sample.

6. KIT CONTENTS, REAGENT PREPARATION AND STABILITY FOR MATERIALS PROVIDED

The reagents are sufficient for 96 wells. Reagents of different kit lots should not be mixed.

6.1. Microplate

Contents: 12 x 8 strips in frame coated with high-affinity, monoclonal anti-human -PGI IgG_1.
Preparation: Ready for use.
Stability: Stable until expiry date. Discard the strips after use.

6.2. Washing Buffer Concentrate (x 10)

Contents: 120 ml of 10 x phosphate buffer concentrate containing Tween 20 and preservative.
Preparation: Dilute 1 to 10 (e.g. 100 ml + 900 ml) with distilled water and mix well.
Stability: The diluted solution is stable for two weeks refrigerated (2…8 °C).

6.3. Diluent Buffer

Contents: 100 ml of phospha te buffer containing bovine serum albumin, Tween 20, preservative and red dye extract.
Preparation: Ready for use.
Stability: Stable until expiry date.

6.4. Blank Solution

Contents: One vial containing 1.5 ml of human ser um-based phosphate buffer with preservative.
Preparation: Ready for use.
Stability: Stable until expiry date.

6.5. Calibrators

Contents: Three vials each containing 1.5 ml of human ser um-based calibrators with preservatives. The calibrators have lot-specific PGI values of approximately 25, 100 and 200 µg/l. The exact PGI concentration of the calibrators is labelled on the vials.
Preparation: Ready for use.
Stability: Stable until expiry date.

15. REFERENCES / LITERATURHINWEIS / REFERENCIAS / BIBLIOGRAFIA

1. Varis K. Surveillance of pernicious anemia. In Precancerous Lesions of the Gastrointestinal Tract. Scherlock P, Morson PC, Barbara L, Veronesi U (eds), Raven Press, New York 1983:189-194.
2. Sipponen P, Kekki M, Haapakoski J, Ihamäki T, Siurala M. Gastric cancer risk in chronic atrophic gastritis: statistical calculations of cross sectional data. Int J Cancer 1985; 35:173-177.
3. Varis K, Samloff IM, Ihamäki T, Siurala M. An appraisal of tests for severe atrophic gastritis in relatives of patients with per nicious anemia. Dig Dis Sci 1979; 24:187-191.
4. Varis K, Kekki M, Härkönen M, Sipponen P, Samloff IM. Ser um pepsinogen I and serum gastrin in screening of atrophic pangastritis with high risk of gastric cancer. Scand J Gastroenterol 1991; 186:117-123.
5. Knight T, Wyatt J, Wilson A, Greaves S. Newell D, Hengels K, Corlett M, Webb B, Forman D, Elder J. Helicobacter pylori gastritis and serum pepsinogen levels in a healthy population: development of a biomarker strategy for gastric atrohpy in high groups. Br J Cancer 1996; 73:819-824.
6. Borch K, Axelsson CK, Halgreen H, Damkjaer Nielsen MD, Ledin T, Szesci PB. The ratio of pe psinogen A to pepsinogen C: a sensitive test for atrophic gastritis. Scand J Gastroenterol 1989; 24:870-876.
7. Varis K, Sipponen P, Laxén F, Samloff IM, Huttunen JK, Taylor PR, Heinonen OP, Albanes D, Sande N, Virtamo V, Härkönen M, Helsinki Gastritis Study Group. Implications of ser um pepsinogen I in early endoscopic diagnosis of gastric cancer and dysplasia. Scand J Gastroenterol 2000; 35:950-956.
8. Miki K, Ichinose M, Ishikawa KB, Yahagi N, Matsushima M, Kakei N, Tsukada S, Kido M, Ishihama S, Shimizu Y, Suzuki T, Kurokawa K. Clinical application of serum pepsinogen I and II levels for mass screening to detect gastric cancer. Jpn J Cancer Res 1993; 84:1086-1090.
9. Hattori Y, Tashiro H, Kawamoto T, Kodama Y. Sensitivity and specificity of mass screening for gastric cancer using the measurement of ser um pepsinogens. Jpn J Cancer Res 1995; 86:1210-1215.
10. Yoshihara M, Sumii K, Haruma K, Kiyohira K, Hattori N, Tanka S, Kajiyama G, Shigenobu T. The usefulness of gastric mass screening using ser um pepsinogen levels compared with photofluorography. Hiroshima J Med Sci 1997; 46:81-86.
11. Miki K, Ichinose M, Shimizu A, Huang SC, Oka H, Furihata C, Matsushima T, Takahaski K. Serum pepsinogens as a screening test of extensive chronic gastritis. Gastroenterol Jpn 1987; 22: 33-141.
12. Kodoi A, Yoshihara M, Sumii K, Haruma K, Kajiyama G. Serum pepsinogen in screening for gastric cancer. J Gastroenterol 1995; 30: 452-460.
13. Aoki K, Misumi J, Kimura T, Zhao W, Xie T. Evaluation of cut-off levels for screening of g astric cancer using serum pepsinogens and distribution of levels of

Linearità:
Tre campioni di siero sono stati dosati in diluizioni seriali con tampone di diluente per determinare la linearità del test Biohit ELISA per pepsinogeno I. I risultati sono riportati nella tabella seguente:

Campione	Fattore di diluizione	Osservato (µg/l)	Atteso (µg/l)	Recupero (%)
1	1	212,4	-	-
	2	105,4	106,2	99
	4	52,8	53,1	99
2	1	146,4	-	-
	2	72,8	73,2	99
	4	39,3	36,6	107
3	1	59,0	-	-
	2	29,7	29,5	101
	4	14,8	14,7	101

13. DATA DI PUBBLICAZIONE

Istruzioni d'uso per il kit per pepsinogeno I.
Versione 01 aprile 1 2004.

14. GARANZIA

Il Produttore è tenuto a porre rimedio a tutti i difetti scoperti in qualsiasi Prodotto ("Prodotto difettoso") causati dall'uso di materiali non adeguati o da errori di lavorazione che impediscano il funzionamento meccanico o l'uso previsto dei Prodotti, tra cui, ma non in modo limitativo, le funzioni indicate nelle specifiche sui Prodotti fornite dal Produttore. QUALSIASI GARANZIA VERRÀ TUTTAVIA RITENUTA NULLA SE I DIFETTI SONO STATI CAUSATI DA ABUSO, USO ERRATO, DANNI ACCIDENTALI, CONSERVAZIONE O UTILIZZO ERRATO DEI PRODOTTI IN OPERAZIONI CHE ESULANO DAI LIMITI O DALLE SPECIFICHE INDICATE, IN MODO NON CONFORME ALLE INDICAZIONI FORNITE NEL MANUALE DI ISTRUZIONI.

Il periodo di garanzia per il Distributore è definito nel manuale di istruzioni dei Prodotti e ha inizio dalla data in cui il Prodotto rilevante viene inviato dal Produttore. In caso di controversie interpretative si applica il testo in lingua inglese

Tutti i kit diagnostici Biohit sono stati prodotti in conformità con i nostri protocolli di gestione della qualità ISO 9001 / ISO 13485 e hanno superato tutte le procedure di controllo della qualità rilevanti relative a questi prodotti.

6.6. Control

Contents: One vial containing 1.5 ml of human serum-based PGI control with preservative. The expected PGI level of the control is indicated on the label.
Preparation: Ready for use.
Stability: Stable until expiry date.

6.7. Conjugate Solution

Contents: 15 ml of HRP-conjugated monoclonal anti-human-PGI in stabilizing buffer.
Preparation: Ready for use.
Stability: Stable until expiry date.

6.8. Substrate Solution

Contents: 15 ml of tetramethylbenzidine (TMB) in buffer containing preservative.
Preparation: Ready for use.
Stability: Stable until expiry date. Avoid exposure to direct light.

6.9. Stop Solution

Contents: 15 ml of 0.1 mol/l sulphuric acid.
Preparation: Ready for use.
Stability: Stable until expiry date.

6.10. Incubation Covers

Four plastic sheets to cover the microplate during incubation.

6.11. Instruction Manual

7. MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Distilled or deionized water
- Micropipettes and disposable tips, to accurately deliver 20 - 1000 µl
- Pipettes to accurately deliver 1 - 10 ml
- 8-channel pipette delivering 100 µl
- Graduated cylinder, 1000 ml
- Vortex mixer for sample dilutions
- Test tubes for specimen dilutions
- Microplate washer
- Paper towels or absorbent paper
- Timer
- Incubator, 37 °C
- Microplate reader, 450 nm
- e.g. plastic blood collection tube for serum or plasma
- Container for ice

8. STORAGE AND STABILITY

Store the Pepsinogen I kit refrigerated (2…8 °C). When stored at these temperatures the kit is stable until the expiration date printed on the box label and the label of each individual kit component. Do not freeze or expose the kit to high temperatures or store at above 8 °C when not in use. The substrate solution is sensitive to light. The microplate or individual strips should not be removed from the foil pouch until equilibrated to room temperature (20…25 °C). Unused strips must be returned to the foil pouch, sealed and stored at 2…8 °C.

Do not use reagents after the expiration date printed on the label. Do not use reagents from kits with different lot numbers or substitute reagents from kits of other manufacturers. Use only distilled or deionized water. The components of the kit are provided at precise concentrations. Further dilution or other alterations of the reagents may cause incorrect results.

Indication of Kit Deterioration

Liquid components should not be visibly cloudy or contain precipitated material. At 2…8 °C, the washing buffer concentrate may, however, partially crystallize, but the crystals will dissolve by mixing at room temperature (20…25°C). The substrate solution should be colorless or pale blue. Any other color indicates deterioration of the substrate solution.

9. TEST PROCEDURE

PRELIMINARY PREPARATIONS

Allow all reagents and the microplate to reach room temperature (20…25°C). Warm the incubator to 37°C. Dilute the washing buffer concentrate 1 to 10 (e.g. 100 ml + 900 ml) with distilled or deionized water. Read the complete assay procedure before starting. It is recommended that all calibrators and samples are applied on the plate as duplicates. It is necessary to use calibrators and the control in each test run.

Mix all the reagents and samples well before use.

SPECIMEN DILUTION

Dilute serum or plasma samples 1 to 10 (50 µl + 450 µl) with the diluent buffer, mix well.

STEP I

Mix and pipette 100 µl of the blank solution (BS), the calibrators (CAL1-CAL3), the control and diluted samples (S1, S2 etc.) into the wells as duplicates (see Figure 1). Cover the plate with the incubation cover. Incubate for 60 minutes at 37°C.

Sensibilità:

La sensibilità del test è stata determinata in due modi:

1) La diluizione di un calibratore del kit con concentrazione di PGI di 10,0 µg/l con tampone di diluente fornisce un limite di CV pari al 10% alla concentrazione di 0,6 µg/l.

2) La media di 25 repliche zero più 2 deviazioni standard corrisponde a 1,9 µg/l di PGI.

Recupero:

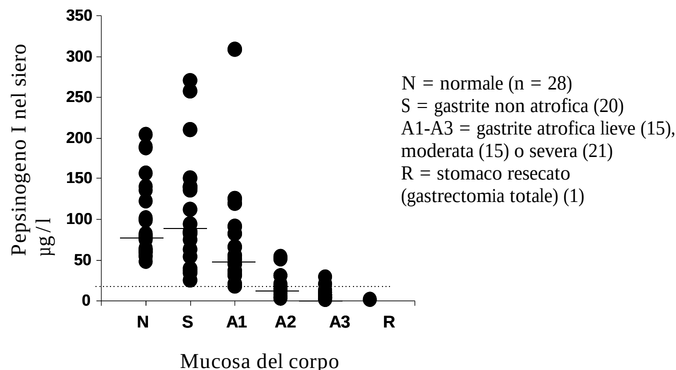
A quattro campioni di siero sono stati aggiunti 6,2, 31,0 e 60,8 µg/l di pepsinogeno I umano (PGI umano purificato, diagnostica Biohit).

Il recupero medio è stato pari a:

6,2 µg/l	97,5%
31,0µg/l	89,1%
60,8µg/l	72,6%

Correlazione È stata dimostrata correlazione tra i livelli di pepsinogeno I nel siero e lo stato istologico della mucosa del corpo gastrico (18).

Pepsinogeno I nel siero e mucosa del corpo gastrico - Caso finlandese - Studio di controllo



Imprecisione tra saggi:
L'imprecisione tra saggi è stata valutata in sei dosaggi utilizzando quatto campioni di siero. La concentrazione di PGI di questi campioni è stata misurata in duplicato.

Campione	PGI medio (μg/l)	% CV
1	10,3	4,9
2	47,4	3,0
3	80,4	3,4
4	133,9	2,9

Specificità / Reattività crociata:
La reattività crociata e l'interferenza da parte di PGII sono state testate tramite l'aggiunta di PGII (Società Z) a cinque campioni di siero a concentrazioni fino a 200 μg/l. Il test non ha mostrato alcun aumento né riduzione significativa del segnale nei campioni con una concentrazione di PGII pari a 200 μg/l.

Campione	PGII aggiunto (μg/l per campione)	PGI osservato (μg/l)	Aggiunto / Campione 0 (%)
1	-	4,2	-
	10	4,2	100
	50	4,4	105
	200	4,4	105
2	-	26,3	-
	10	24,6	93,5
	50	27,3	104,0
	200	24,5	93,2
3	-	56,2	-
	10	59,6	106,0
	50	60,9	108,0
	200	53,3	94,8
4	-	72,7	-
	10	70,8	97,4
	50	72,5	99,7
	200	71,9	98,9
5	-	100,1	-
	10	98,3	98,2
	50	99,9	99,8
	200	98,7	98,6

Figure 1. Pipetting Order.

	1	2	3	4	5
A	BS	BS			
B	CAL1	CAL1			
C	CAL2	CAL2			
D	CAL3	CAL3			
E	Control	Control			
F	S1	S1			
G	S2	S2			
H	etc.	etc.			

WASHING
Wash the wells three times with 350 μl of the diluted (1 to 10) washing buffer and gently tap the inverted plate a few times on a clean paper towel.

STEP II
Pipette 100 μl of the mixed conjugate solution into the wells, preferably with an 8-channel pipette. Cover the plate with the incubation cover. Incubate for 30 minutes at 37°C.

WASHING
See the washing procedure of STEP I.

STEP III
Pipette 100 μl of the mixed substrate solution into wells with an 8-channel pipette. Start the incubation time after pipetting the substrate solution into the first strip and continue the incubation for 30 minutes at room temperature (20…25°C). Avoid direct exposure to light during incubation.

STEP IV
Pipette 100 μl of the mixed stop solution with an 8-channel pipette into the wells.

MEASURING
Measure the absorbance at 450 nm within 30 minutes.

10. RESULTS

10.1. Quality Control Values
Good Laboratory Practice requires the use of appropriate controls to establish that all the reagents and protocols are performing as designated. The Pepsinogen I ELISA is provided with the control serum.

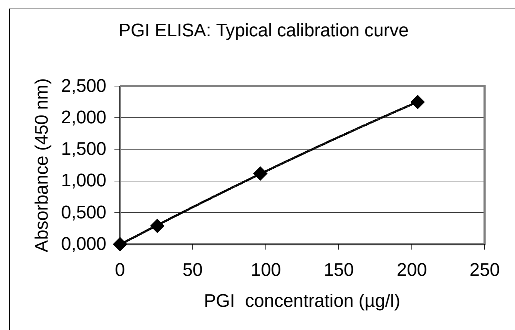
Quality control charts should be maintained to follow the performance of the control or appropriate statistical methods should be used for analyzing control values, which should fall within the appropriate confidence intervals employed in each laboratory.

10.2. Calculation of the Results
Assay results can be analyzed by using a) manual method or b) automated methods, where the absorbance readings are converted to pepsinogen I concentrations.

a) Manual Method
Calculate the mean absorbance of the duplicate deter minations of the blank solution, the calibrators, the control and samples. Subtract the mean of the blank solution from itself (consider this as the first point of the calibration cur ve), the calibrators, the control and samples. Graph the calibrator curve by plotting the mean absorbance for the first point and each calibrator (y-axis) against the PGI concentrations given for the calibrators (x-axis). Draw a best fit curve to construct a calibration curve. Use the mean absorbance value for each sample and the control to interpolate the PGI value from the calibration curve.

b) Automated Methods
There are several computer programs available for interpolating the unknown concentrations, automatically. A simple 2nd order polynomial fit is adequate for interpolating unknown concentrations within the calibrator range. However, if sample absorbance value exceeds the absorbance value of the highest calibrator, a more complex extrapolating algorithm may be more appropriate. A typical calibration curve is shown in Figure 2.

Figure 2. Example of a Typical Calibration Curve.



10.3. Prevalenza
Nella popolazione anziana (età superiore a 50 anni), il 10% rivela gastrite atrofica avanzata a livello del corpo gastrico e livelli anormali di S-PGI (S-PGI<25 µg/l). L'esame endoscopico mostra che circa il 5% di questi pazienti è affetto da tumore gastrico o lesioni precancerose (7).

10.4. Interpretazione dei risultati

- Un livello basso di S/P-PGI (S/P-PGI<25 µg/l) indica gastrite atrofica avanzata (moderata e grave) della mucosa del corpo gastrico. Questo livello di cut-off è stato individuato utilizzando il kit Biohit ELISA per pepsinogeno I sulla base di un vasto materiale clinico. Un valore basso di S/P-PGI è un indicatore per l'endoscopia gastrointestinale superiore (gastroscopia), a causa del maggior rischio di insorgenza di lesioni precancerose e tumore gastrico in questi pazienti.
- Si raccomanda di considerare i limiti indicati come linee guida. I risultati del PGI determinati per un determinato campione con dosaggi di diversi produttori possono variare, a causa delle differenze della standardizzazione, dei metodi di dosaggio e della specificità dei reagenti. I risultati ottenuti con metodi di dosaggio di altri produttori non devono essere utilizzati in modo interscambiabile.
- Questo dosaggio ELISA per pepsinogeno I consente un'ampia gamma di misurazioni delle concentrazioni sia elevate che basse di S/P-PGI.

11. LIMITI DELLA PROCEDURA

Come con qualsiasi procedura diagnostica, i risultati del test Biohit ELISA per pepsinogeno I devono essere interpretati alla luce del quadro clinico del paziente, insieme a tutte le altre informazioni a disposizione del medico.

I campioni con sospette concentrazioni di PGI superiori al calibratore più alto devono essere diluiti ulteriormente (diluizione finale 1 a 20) prima del dosaggio.

12. CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Imprecisione intra-saggio:
L'imprecisione intra-saggio è stata determinata utilizzando quattro campioni di siero. Questi campioni sono stati eseguiti come 17 repliche in una seduta.

Campione	PGI medio (µg/ll)	% CV
1	9,3	5,9
2	31,3	3,0
3	78,1	2,4
4	137,2	2,4

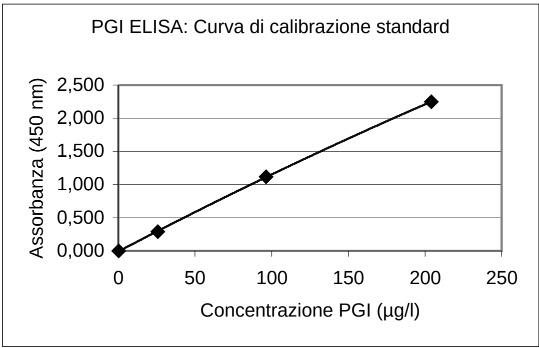
controllo oppure utilizzare metodi statistici appropriati per analizzare i valori di controllo, che devono rientrare negli intervalli di confidenza appropriati utilizzati in ogni laboratorio

10.2. Calcolo dei risultati
I risultati del test possono essere analizzati utilizzando a) un metodo manuale o b) metodi automatizzati, in cui i valori di assorbanza vengono convertiti in concentrazioni di pepsinogeno I.

a) Metodo manuale
Calcolare l'assorbanza media delle determinazioni in duplicato del bianco, dei calibratori, del controllo e dei campioni. Sottrarre la media del bianco da se stessa (considerare questo valore come il primo punto della curva di calibrazione), i calibratori, il controllo e i campioni. Per creare un grafico della curva del calibratore, tracciare l'assorbanza media del primo punto e di ogni calibratore (asse y) e le concentrazioni di PGI fornite per i calibratori (asse x). Tracciare una curva "best-fit" per creare una curva di calibrazione. Utilizzare il valore di assorbanza media di tutti i campioni e del controllo per interpolare il valore di PGI dalla curva di calibrazione.

b) Metodi automatizzati
Vi sono diversi programmi informatici disponibili per interpolare automaticamente le concentrazioni non note. Un semplice fit polinomiale di secondo ordine è adeguato per l'interpolazione di concentrazioni non note nell'intervallo di calibrazione. Tuttavia, se il valore di assorbanza del campione è superiore al valore di assorbanza del calibratore maggiore, si consiglia di utilizzare un algoritmo di estrapolazione più complesso. La Figura 2 mostra una curva di calibrazione standard.

Figura 2. Esempio di una curva di calibrazione standard



10.3. Prevalence
In an elderly population (age above 50 years), 10% shows advanced atrophic corpus gastritis and abnormal S-PGI levels (S-PGI<25 µg/l). Approximately 5% of these patients show gastric cancer or precancerous lesions in endoscopy (7).

10.4. Interpretation of the Results

- A low S/P-PGI result (S/P-PGI<25 µg/l) indicates advanced (moderate and severe) atrophic gastritis of the corpus mucosa. This cut-off level has been determined using the Biohit Pepsinogen I ELISA kit based on large clinical material. A low S/P-PGI is an indicator for upper gastrointestinal endoscopy (gastroscopy) because of the increased risk of these patients of developing cancer prelesions and gastric cancer.
- It is recommended that the given limits are considered as guidelines. Also the PGI results determined for given specimen with assays from different manufacturers can vary due to differences in standardization, assay methods and reagent specificity. Results obtained from other manufacturers' assay method should not be used interchangeably.
- This Pepsinogen I ELISA assay enables wide range measurements of both low and high concentrations of S/P-PGI.

11. LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

As with any diagnostic procedure the Biohit Pepsinogen I ELISA test results must be interpreted together with the patient's clinical presentation and any other information available to the physician.

Samples suspected of having PGI concentrations greater than the highest calibrator should be further diluted (final dilution 1 to 20) before assay.

12. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Within-Assay Imprecision:
The within-assay imprecision was determined with four serum samples. These samples were run as 17 replicates in one run.

Sample	Mean PGI (µg/l)	CV %
1	9.3	5.9
2	31.3	3.0
3	78.1	2.4
4	137.2	2.4

Between-Assay Imprecision:

The between-assay imprecision was evaluated in six assays using four serum samples. The PGI concentration of these samples was measured as duplicates.

Sample	Mean PGI (µg/l)	CV %
1	10.3	4.9
2	47.4	3.0
3	80.4	3.4
4	133.9	2.9

Specificity / Cross-Reactivity:

The cross-reaction and interference by PGII was tested by spiking five serum samples with PGII (Company Z) at the concentrations of up to 200 µg/l. The test showed no significant increase or reduction in the signal of the samples with a PGII concentration of 200 µg/l.

Sample	PGII added (mg/l in sample)	PGI observed (mg/l)	Added / 0-sample (%)
1	-	4.2	-
	10	4.2	100
	50	4.4	105
	200	4.4	105
2	-	26.3	-
	10	24.6	93.5
	50	27.3	104.0
	200	24.5	93.2
3	-	56.2	-
	10	59.6	106.0
	50	60.9	108.0
	200	53.3	94.8
4	-	72.7	-
	10	70.8	97.4
	50	72.5	99.7
	200	71.9	98.9
5	-	100.1	-
	10	98.3	98.2
	50	99.9	99.8
	200	98.7	98.6

Figura 1. Ordine di pipettamento.

	1	2	3	4	5
A	BS	BS			
B	CAL1	CAL1			
C	CAL2	CAL2			
D	CAL3	CAL3			
E	Controllo	Controllo			
P	S1	S1			
G	S2	S2			
A	Ecc.	Ecc.			

LAVAGGIO

Lavare i pozzetti tre volte con 350 µl di tampone di lavaggio diluito (1 to 10) e battere delicatamente la piastra capovolta alcune volte su una salvietta di carta pulita.

FASE II

Pipettare 100 µl della soluzione coniugata miscelata nei pozzetti, possibilmente con una pipetta a 8 canali. Coprire la piastra con la copertura per incubazione. Incubare per 30 minuti a 37°C.

LAVAGGIO

Vedere le procedure di lavaggio descritte nella FASE I.

FASE III

Pipettare 100 µl della soluzione di substrato miscelata nei pozzetti con una pipetta a 8 canali. Iniziare a calcolare il tempo di incubazione dopo aver pipettato la soluzione di substrato nella prima striscia e continuare l'incubazione per 30 minuti a temperatura ambiente (20..25°C). Non esporre alla luce diretta durante l'incubazione.

FASE IV

Pipettare 100 µl della soluzione di arresto miscelata nei pozzetti con una pipetta a 8 canali.

MISURAZIONE

Misurare l'assorbanza a 450 nm entro 30 minuti.

10. RISULTATI

10.1. Valori per il controllo della qualità

Le pratiche standard di laboratorio prevedono l'uso di controlli appropriati che consentano di verificare che tutti i reagenti e i protocolli vengano eseguiti nel modo indicato. Il kit ELISA per pepsinogeno I include i sieri di controllo necessari. È necessario registrare tabelle di controllo della qualità per monitorare le prestazioni del

8. CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Il kit per pepsinogeno I deve essere conservato in frigorifero (2…8 °C). Se conservato a queste temperature, il kit è stabile fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta della confezione e sull'etichetta di ogni componente del kit. Non congelare e non esporre il kit a temperature elevate. Non conservare a temperature superiori a 8 °C quando non in uso. La soluzione di substrato è sensibile alla luce. Non rimuovere la micropiastra né le singole strisce dalla confezione in alluminio prima che abbiano raggiunto la temperatura ambiente (20…25 °C). Le strisce non utilizzate devono essere riposte nella confezione in alluminio, sigillate e conservate a 2…8 °C.

Non utilizzare i reagenti dopo la data di scadenza indicata sull'etichetta. Non utilizzare reagenti di kit con numeri di lotto diverso e non utilizzare reagenti di kit di altri produttori. Utilizzare solo acqua distillata o deionizzata. I componenti del kit sono forniti con concentrazioni precise. Un'ulteriore diluizione o altre alterazioni dei reagenti possono portare a risultati errati.

Indicazione del deterioramento del kit

I componenti liquidi non devono essere visibilmente torbidi e non devono contenere precipitazioni. A 2…8 °C, il concentrato del tampone di lavaggio può cristallizzarsi, anche se parzialmente, ma i cristalli si dissolvono tramite miscelazione a temperatura ambiente (20…25°C). La soluzione di substrato deve essere incolore o di colore blu pallido. Qualsiasi altro colore indica un deterioramento della soluzione di substrato.

9. PROCEDURA DEL TEST

OPERAZIONI PRELIMINARI

Attendere che tutti i reagenti e la micropiastra raggiungano la temperatura ambiente (20..25°C). Riscaldare l'incubatore a 37°C. Diluire il concentrato del tampone di lavaggio 1 a 10 (ad esempio 100 ml + 900 ml) con acqua distillata o deionizzata. Leggere la procedura del test per intero prima di iniziare. Si consiglia di applicare sulla piastra come duplicati tutti i calibratori e i campioni. È necessario utilizzare i calibratori e il controllo in tutte le sedute del test.

Miscelare bene tutti i reagenti e i campioni prima dell'uso.

DILUIZIONE DEI CAMPIONI

Diluire i campioni di plasma o siero 1 a 10 (50 µl +450 µl) con il tampone di diluente. Miscelare bene.

FASE I

Miscelare e pipettare 100 l di bianco (BS), i calibratori (CAL1-CAL3), il controllo e i campioni diluiti (S1, S2, eccetera) nei pozzetti come duplicati (vedere la Figura 1). Coprire la piastra con la copertura per incubazione. Incubare per 60 minuti a 37°C.

Sensitivity:
The sensitivity of the test was determined in two different ways:

1) Dilution of a kit calibrator with PGI concentration 10.0 µg/l with diluent buffer gives a 10% CV limit at a concentration of 0.6 µg/l.

2) Mean of 25 zero re plicates + 2 standard deviations corresponds to 1.9 µg/l PGI.

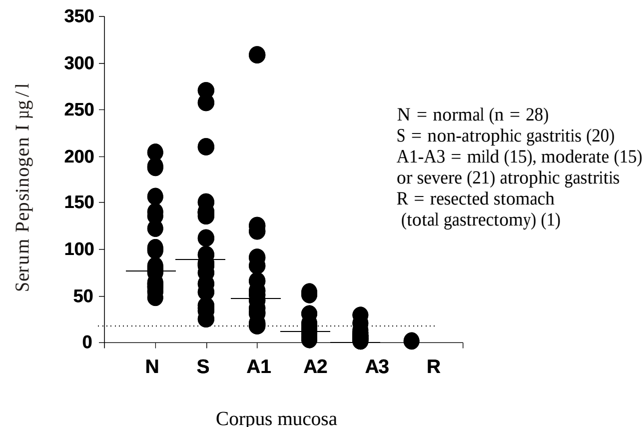
Recovery:
Four serum samples were spiked with 6.2, 31.0 and 60.8 µg/l human pepsinogen I (purified human PGI, Biohit Diagnostics).

The average recovery was:

6.2 µg/l	97.5%
31.0 µg/l	89.1%
60.8 µg/l	72.6%

Correlation:
Correlation was shown with the relationship between the serum levels of pep sinogen I and histological status of the cor pus mucosa (18).

Serum Pepsinogen I and Corpus Mucosa - Finnish Case-Control study



Linearity:
Three serum samples were assayed in serial dilutions with the diluent buffer to determine the linearity of Biohit Pepsinogen I ELISA. Results are listed in the following table.

Sample	Dilution factor	Observed (µg/l)	Expected (µg/l)	Recovery (%)
1	1	212.4	-	-
	2	105.4	106.2	99
	4	52.8	53.1	99
2	1	146.4	-	-
	2	72.8	73.2	99
	4	39.3	36.6	107
3	1	59.0	-	-
	2	29.7	29.5	101
	4	14.8	14.7	101

13. DATE OF ISSUE

Pepsinogen I kit insert.
Version 01, April 1, 2004.

14. WARRANTY

The Manufacturer shall remedy all defects discovered in any Product (the “Defective Product”) that result from unsuitable materials or negligent workmanship and which prevent the mechanical functioning or intended use of the Products including, but not limited to, the functions specified in the Manufacturer's specifications for the Products. ANY WARRANTY WILL, HOWEVER, BE DEEMED AS VOID IF FAULT IS FOUND TO HAVE BEEN CAUSED BY MALTREATMENT, MISUSE, ACCIDENTAL DAMAGE, INCORRECT STORAGE OR USE OF THE PRODUCTS FOR OPERATIONS OUTSIDE THEIR SPECIFIED LIMITATIONS OR OUTSIDE THEIR SPECIFICATIONS, CONTRARY TO THE INSTRUCTIONS GIVEN IN THE INSTRUCTION MANUAL.

The period of this warranty for the Distributor is defined in the instruction manual of the Products and will commence from the date the relevant Product is shipped by the Manufacturer. In case of interpretation disputes the English text applies.

All Biohit Diagnostic kits have been manufactured according to our ISO 9001 / ISO 13485 quality management protocols and have passed all relevant Quality Assurance procedures related to these products.

6.6. Controllo
Contenuto: un flacone contenente 1,5 ml di controllo PGI basato su siero umano con conservanti. Il livello previsto di PGI del controllo è indicata sull'etichetta.
Preparazione: pronto per l'uso.
Stabilità: stabile fino alla data di scadenza.

6.7. Soluzione coniugata
Contenuto: 15 ml di PGI anti-umano monoclonale coniugato con HRP in tampone stabilizzatore.
Preparazione: pronta per l'uso.
Stabilità: stabile fino alla data di scadenza.

6.8. Soluzione di substrato
Contenuto: 15 ml di tetrametilbenzidina (TMB) in tampone con conservanti.
Preparazione: pronta per l'uso.
Stabilità: stabile fino alla data di scadenza. Non esporre alla luce diretta.

6.9. Soluzione di arresto
Contenuto: 15 ml di acido solforico 0,1 mol/l.
Preparazione: pronta per l'uso.
Stabilità: stabile fino alla data di scadenza.

6.10. Copertura per incubazione
Quattro fogli di plastica per ricoprire la micropiastra durante l'incubazione.

6.11. Instruzioni per l'uso

7. MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

- Acqua distillata o deionizzata
- Micropipette e punte monouso, per l'erogazione accurata di 20 - 1000 µl
- Pipette per l'erogazione accurata di 1-10 ml
- Pipette a 8 canali per l'erogazione di 100 µl
- Cilindro graduato, 1000 ml
- Miscelatore vortex per la diluizione dei campioni
- Provette per la diluizione dei campioni
- Dispositivo di lavaggio per micropiastre
- Salviette di carta o carta assorbente
- Timer
- Incubatore, 37 °C
- Lettore per micropiastre, 450 nm
- ad esempio provetta per la raccolta di sangue in plastica per siero o plasma
- Contenitore per il ghiaccio

Se si eseguono i dosaggi Biohit GastroPanel ELISA (pepsinogeno I, pepsinogeno II, gastrina-17, anticorpi *IgG Helicobacter pylori*) con gli stessi campioni, fare riferimento alle istruzioni per l'uso del kit Biohit Gastrin-17 ELISA.

6. CONTENUTO DEL KIT, PREPARAZIONE DEI REAGENTI E STABILITÀ DEI MATERIALI FORNITI

I reagenti sono sufficienti per 96 pozzetti. Non miscelare mai reagenti di lotti di kit diversi.

6.1. Micropiastra
Contenuto: 12 x 8 strisce con telaio, ricoperte con PGI IgG_1 anti-umana monoclonale ad affinità elevata.
Preparazione: pronta per l'uso.
Stabilità: stabile fino alla data di scadenza. Dopo l'uso, gettare le strisce.

6.2. Concentrato di tampone di lavaggio (x 10)
Contenuto: 120 ml di 10 x di concentrato di tampone di fosfato contenente Tween 20 e conservanti.
Preparazione: diluire con acqua distillata 1 a 10 (ad esempio 100 ml + 900 ml) e miscelare bene.
Stabilità: la soluzione diluita è stabile per due settimane se conservata in frigorifero (2..8°C).

6.3. Tampone di diluizione
Contenuto: 100 ml di tampone di fosfato contenente albumina di siero bovina, Tween 20, conservanti ed estratto di colorante rosso.
Preparazione: pronto per l'uso.
Stabilità: stabile fino alla data di scadenza.

6.4. Bianco
Contenuto: un flacone contenente 1,5 ml di tampone di fosfato basato su siero umano con conservanti.
Preparazione: pronto per l'uso.
Stabilità: stabile fino alla data di scadenza.

6.5. Calibratori
Contenuto: tre flaconi contenenti 1,5 ml di calibratori basati su siero umano con conservanti. I calibratori hanno valori di PGI specifici per lotto corrispondenti approssimativamente a 25, 100 e 200 pmol/l. L'esatta concentrazione di PGI dei calibratori è indicata sui flaconi.
Preparazione: pronti per l'uso.
Stabilità: stabile fino alla data di scadenza.

TESTANLEITUNG

Pepsinogen I ELISA — Artikel Nr. 601 010.01

INHALT — Seite

1. ANWENDUNGSGEBIET 18
2. KLINISCHE DATEN 18
3. TESTPRINZIP 18
4. VORSICHTSMASSNAHMEN UND WARNHINWEISE 19
5. SAMMLUNG UND HANDHABUNG DER PROBEN 19
6. PACKUNGSINHALT, REAGENZANSATZ UND 20
STABILITÄTSHINWEISE 20
6.1. Mikrotiterplatte 20
6.2. Waschpufferkonzentrat (x 10) 20
6.3. Verdünnungspuffer 20
6.4. BLANK-Lösung 20
6.5. Standards 20
6.6. Kontrollen 20
6.7. Konjugatlösung 21
6.8. Substratlösung 21
6.9. Stopplösung 21
6.10. Abdeckfolien 21
6.11. Testanleitung 21
7. ZUSÄTZLICH ERFORDERLICHES ARBEITSMATERIAL 21
8. LAGERUNG UND STABILITÄT 22
9. TESTDURCHFÜHRUNG 22
10. ERGEBNISSE 23
10.1. Qualitätskontrolle 23
10.2. Berechnung der Ergebnisse 24
10.3. Prävalenz 25
10.4. Interpretation der Ergebnisse 25
11. GRENZEN DES VERFAHRENS 25
12. TESTSPEZIFIKATIONEN 25
13. AUSSTELLUNGSDATUM 28
14. GARANTIE 28
15. LITERATURHINWEIS 65
16. BESTELLINFORMATIONEN 67
17. TESTKURZANLEITUNG 72

ANHANG: QUALITÄTSKONTROLLE ZERTIFIKAT

1. ANWENDUNGSGEBIET

Der Pepsinogen I (PG-I) Test ist ein Enzym-Immunoassay (ELISA) und dient der quantitativen Bestimmung des humanen Pepsinogen I im Serum oder Plasmaproben.

2. KLINISCHE DATEN

Dieser Test ermöglicht die Erkennung der fortgeschrittenen, atrophischen Gastritis im Magenkorpus. Die Patienten, die daran erkranken, haben ein höheres Magenkrebsrisiko (1,2) . Dieser Serum bzw. Plasma PG-I Test mit seiner Sensitivität und Spezifität von 92% und 90%, bietet somit eine zuverlässige Diagnose bei Patienten die an fortgeschrittenen, atrophischen Gastritis (3-6) erkrankt sind.

Das Pepsinogen I (PG I) ist die inaktive Vorstufe des Enzyms Pepsin und wird von den Hauptzellen, den so genannten oxyntischen Drüsen der Magenschleimhaut produziert. Der größte Anteil des PG I wird in das Lumen ausgeschüttet aber eine kleine Menge kann auch im Serum gefunden werden. Die S/P-PG I Menge korreliert zuverlässig mit der Anzahl der Hauptzellen in der Magenschleimhaut des Korpus. Der Verlust dieser Hauptzellen, führt dementsprechend zu einer linearen Abnahme des S/P-PG-I. Dies wiederum ist das Ergebnis einer atrophischen Gastritis.

Aus noch unbekannten Gründen erhöht die atrophische Gastritis das Magenkrebsrisiko. Patienten mit fortgeschrittener Gastritis im Korpus haben ein 5-fache höheres Risiko an Magenkrebs zu erkranken. Bei fortgeschrittener atrophischer Pangastritis (beide Antrum und Korpus sind betroffen) erhöht sich das Magenkrebsrisiko um das 90-fache, verglichen mit dem Krebsrisiko bei Personen mit gesunder Magenschleimhaut (2).

Reihenuntersuchungen in Finnland der männlichen Raucher mittleren Alters (50-69 Jahre) mit dem S-PG-I Test brachten folgendes Ergebnis: Ein niedriger S-PGI Wert (<25 µg/l) wurde in 9,8 % der Fälle beobachtet. Durch eine nachfolgende Endoskopie wurde nachgewiesen, dass aus dieser Gruppe wiederum 4,7 % entweder an Magenkrebs oder einer Vorstufe litten(7). Entsprechende Ergebnisse wurden schon in früheren Studien veröffentlicht (8-17)

3.TESTPRINZIP

Der PG-I ELISA basiert auf einem Sandwich-Enzym-Immunoassay-Prinzip. Der Antikörper für das zu bestimmende Antigen ist an die Oberfläche der Mikrotiterplatte fixiert. Durch die Zugabe eines Meerrettichperoxidase(HRP) markierten Zweitantikörpers wird die Menge des gebundenen Antigens bestimmt.

Der Reaktionsablauf:

1. PGI spezifische monoklonale Antikörper humanen Ursprungs, die an die Polystyroloberfläche fixiert sind, binden die im Patientenserum vorhandenen PGI-Moleküle.

4. I pozzetti vengono lavati e viene aggiunto il substrato di TMB. Il substrato viene ossigenizzato dall'enzima e viene generato un prodotto finale di colore blu.
5. La reazione dell'enzima viene terminata con una soluzione di arresto. La soluzione contenuta nei micropozzetti dovrebbe assumere un colore giallo. L'intensità del colore giallastro sviluppato è direttamente correlata alla concentrazione di PGI del campione.

4. AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Per l'uso diagnostico *in vitro*

ATTENZIONE: i campioni di siero e di plasma sono materiale a rischio biologico.

Tutti i campioni devono essere considerati come potenzialmente contaminati e devono essere trattati come se fossero infetti. Fare riferimento alla pubblicazione dell' U.S. Department of Health and Human Services (Bethesda, MD., USA) Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 1999, 4° ed. (CDC/NIH) e N. (CDC) 88-8395 per quanto riguarda le procedure di sicurezza di laboratorio relativamente alle diverse malattie o alle normative locali o nazionali.

Il kit contiene reagenti emoderivati. Le materie prime fornite nel kit sono state testate in modo da escludere la presenza di anticorpi dell'epatite B e C, nonché di anticorpi anti-HIV. Tuttavia, poiché nessun metodo di verifica può offrire la certezza assoluta dell'assenza di questi patogeni, è necessario osservare tutte le precauzioni previste per la manipolazione di emoderivati.

Utilizzare sempre guanti protettivi per la manipolazione dei campioni dei pazienti. Utilizzare un dispositivo di pipettamento sicuro per tutte le operazioni di pipettamento. Non eseguire mai le operazioni di pipettamento a bocca. Prima di eseguire il test, leggere tutte le istruzioni. Per lo smaltimento di tutti i reagenti inclusi nel kit, versare il materiale in un lavandino con abbondante acqua corrente.

5. RACCOLTA E MANIPOLAZIONE DEI CAMPIONI

Per la raccolta dei campioni di sangue, il paziente deve essere a digiuno da 10 ore. Il campione deve essere raccolto tramite puntura venosa, ad esempio in una provetta per siero in plastica senza additivi o in una provetta per EDTA o eparina. Le provette dei campioni devono essere miscelate immediatamente capovolgendole per 5-6 volte; le provette di siero devono essere lasciate coagulare (per un minimo di 30 minuti) a temperatura ambiente (20...25°C). Il siero dopo la coagulazione e il plasma immediatamente vengono separati tramite centrifugazione (ad esempio provetta di plastica, accelerazione fino a 2000 G, 10-15 minuti). Il siero e il plasma possono essere conservati in frigorifero (2...8 °C). Per poter conservare i campioni più a lungo, si consiglia di congelarli (preferibilmente a -70°C, in alternativa a -20°C). Dopo averli scongelati, miscelare con attenzione i campioni. Evitare di congelare e scongelare i campioni più volte. I campioni torbidi, lipemici o emolizzati in modo grossolano non devono essere utilizzati.

1. APPLICAZIONE CLINICA

Il kit per pepsinogeno I (PGI) è un dosaggio immunoassorbente quantitativo correlato basato su micropiastre (ELISA) per la determinazione del pepsinogeno I in campioni di siero o plasma umano.

2. BACKGROUND CLINICO

Questo test viene utilizzato per identificare i pazienti affetti da gastrite atrofica avanzata nel corpo gastrico, con conseguente aumento del rischio di tumore gastrico (1, 2). I dosaggio PGI su siero o plasma (S-PGI, P-PGI) è uno strumento affidabile per l'individuazione dei pazienti con gastrite atrofica avanzata a livello del corpo gastrico (3-6); la sensibilità e la specificità del test sono rispettivamente pari a 92% e 90%.

Il pepsinogeno I (PGI) è un enzima precursore della pepsina ed è sintetizzato dalle cellule adelomorfe e dalle cellule del collo del corpo gastrico (dalle cosiddette ghiandole ossintiche della mucosa gastrica). La maggior parte del PGI è secreta nel lume gastrico, ma una piccola quantità può essere individuata nel sangue. Il livello di S/P-PGI è correlato in modo affidabile al numero di cellule adelomorfe presenti nella mucosa del corpo gastrico. Di conseguenza, la perdita di cellule adelomorfe è rispecchiata in una riduzione lineare di S/P-PGI. La perdita delle cellule adelomorfe è un risultato della gastrite atrofica.

Per motivi non noti, la gastrite atrofica comporta un aumento del rischio di tumore gastrico. Nei pazienti affetti da gastrite atrofica avanzata a livello del corpo gastrico tale rischio è di 5 volte maggiore e nei pazienti con pangastrite atrofica avanzata (che interessa sia l'antro che il corpo gastrico) addirittura di 90 volte maggiore che nei soggetti con una mucosa gastrica normale (2).

Lo screening con test S-PGI di uomini fumatori di mezza età (50-69 anni) in Finlandia ha rivelato che bassi livelli di S-PGI (<25 µg/l) sono presenti nel 9,8% degli uomini, il 4,7% dei quali si è rivelato affetto (tramite esame endoscopico) da tumore gastrico o lesioni precancerose (7). Risultati analoghi sono stati rilevati anche tramite studi precedenti (8-17).

3. PRINCIPIO DEL TEST

Questo test ELISA del PGI è basato sulla tecnica di immunodosaggio enzimatico a sandwich con un anticorpo di cattura specifico per PGI assorbito su una micropiastra e un anticorpo di rilevazione marcato con perossidasi di rafano (HRP).

Il dosaggio include le seguenti reazioni:

1. Un anticorpo monoclonale, specifico del PGI umano, sulla superficie in polistirene del pozzetto, si lega alle molecole di PGI presenti nel campione.
2. I pozzetti vengono lavati per rimuovere il campione residuo.
3. Un anticorpo di rilevazione monoclonale coniugato con HRP viene aggiunto ai pozzetti e si lega alle molecole di PGI.

2. Das überschüssige Serum und das unspezifisch gebundene Protein werden weggewaschen.
3. Der HRP markierte Zweitantikörper wird zugegeben und bindet sich an die PG-I-Moleküle.
4. Nach einem weiteren Waschvorgang wird Tetramethylbenzidin (TMB) als Substrat zugegeben. Das Substrat wird durch das Enzym oxidiert, was zu einem farbigen Endprodukt führt.
5. Die Enzymreaktion wird mit einer Stopplösung beendet. Die Intensität der Farbentwicklung ist proportional zur PG-I Konzentration der Probe.

4. VORSICHTSMASSNAHMEN UND WARNHINWEISE

Anwendung für *in vitro* diagnostische Zwecke

VORSICHT: Behandeln Sie die Serum- und Plasmaproben als potentiell gefährliches biologisches Material.

Alle Proben sollten als potentiell verunreinigt betrachtet werden und als infektiös behandelt werden. Bitte beachten Sie die Veröffentlichungen des U.S. Departement of Heath and Human Services (Bethesda, MD., USA),1999, 4th ed. (CDC/NIH) und Nr. (CDC) 88-8395 bezüglich Laborsicherheitsvorschriften sowie lokale oder nationale Regelungen.
Dieser Test enthält Reagenzien die aus menschlichen Blutbestandteilen hergestellt wurden. Das verwendete Material wurde auf Hepatitis B und C sowie HIV-Antikörper getestet und als negativ befunden. Da jedoch keine Testmethode die absolute Sicherheit geben kann, sollten alle Vorsichtsmassnahmen im Umgang mit Blutderivaten beachtet werden.
Verwenden Sie bei Umgang mit Proben immer Einmalhandschuhe. Für alle Pipettierschritte müssen sichere Pipettierhilfen verwendet werden. Niemals mit dem Mund pipettieren. Lesen Sie die Testanleitung vor dem Ansatz des Tests sorgfältig durch. Alle Reagenzienbestandteile des Tests können in den Ausguss entsorgt werden. Danach mit reichlich Leitungswasser nachspülen.

5. SAMMLUNG UND HANDHABUNG DER PROBEN

Der Patient sollte für die Blutentnahme mind. 10 Std. nüchtern sein. Die Blutprobe sollte in ein Plastikröhrchen ohne Zusätze oder in ein EDTA-/Heparinplasmaröhrchen entnommen werden. Nach der Entnahme die Blutröhrchen 5-6 mal mischen. Für die Koagulation dürfen die Röhrchen nicht länger als 30 Minuten bei RT (20-25 °C) stehen. Die Serumproben nach dem Gerinnen und die Plasmaproben sofort zentrifugieren (z.B. Plastikröhrchen bei 2000 G, 10-15 Minuten) und danach in separate Plastikröhrchen überführen und gekühlt bei 2...8 °C aufbewahren. Für längere Aufbewahrung sollten die Proben eingefroren werden (bevorzugt bei -70 °C oder alternativ bei -20 °C). Nach dem Auftauen die Proben stets gut mischen. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen der Proben sollte vermieden werden. Stark hämolytische, lipämische oder trübe Proben dürfen nicht verwendet werden.

Bitte beachten Sie die Biohit Gastrin-17 Testanleitung, falls Sie das gesamte Biohit GastroPanel (Pepsinogen I, Pepsinogen II, Gastrin-17 und Helicobacter *pylori* IgG) aus einer Probe ansetzen möchten.

6. PACKUNGSINHALT, REAGENZANSATZ UND STABILITÄTSHINWEISE

Die Reagenzien einer Packung sind ausreichend für 96 Vertiefungen der Mikrotiterplatte. Die Reagenzien verschiedener Chargen dürfen nicht gemischt werden.

6.1. Mikrotiterplatte
Inhalt: 12 x 8 Streifen im Plattenrahmen, beschichtet mit hochreaktionsfähigem anti-human PGI-IgG1.
Vorbereitung: gebrauchsfertig
Haltbarkeit: siehe aufgedrucktes Verfallsdatum. Nach dem Benutzen die Streifen verwerfen.

6.2. Waschpufferkonzentrat (x 10)
Inhalt: 120 ml 10-fach konzentrierter Phosphatpuffer enthält Tween 20 und Konservierungsmittel.
Vorbereitung: Verdünnung 1:10 (z.B. 100 ml + 900 ml) mit dest. Wasser. Danach gut mischen
Haltbarkeit: der verdünnte Waschpuffer ist gekühlt (2...8 °C) zwei Wochen haltbar.

6.3. Verdünnungspuffer
Inhalt: 100 ml Phosphatpuffer enthält Protein, Tween 20, Konservierungsmittel und roten Farbstoffextrakt
Vorbereitung: gebrauchsfertig
Haltbarkeit: siehe aufgedrucktes Verfallsdatum.

6.4. BLANK-Lösung
Inhalt: 1 Fläschchen mit 1,5 ml Tris-Puffer und Konservierungsmittel. Hinweis: Der Puffer ist leicht trüb.
Vorbereitung: gebrauchsfertig
Haltbarkeit: siehe aufgedrucktes Verfallsdatum.

6.5. Standards
Inhalt: 3 Fläschchen mit je 1,5 ml Standard basierend auf Humanserum mit Konservierungsmittel. Die Konzentrationen der Standards 25, 100 und 200 µg/l sind chargenabhängig und können variieren. Die genaue PG-I Konzentration ist jeweils auf dem Fläschchenetikett aufgedruckt.
Vorbereitung: gebrauchsfertig.
Haltbarkeit: siehe aufgedrucktes Verfallsdatum.

6.6. Kontrollen
Inhalt: 1 Fläschchen mit 1,5 ml Kontrolle basierend auf Humanserum mit Konservierungsmittel.

INSTRUZIONI PER L'USO

ELISA per Pepsinogéne I N. Cat. 601 010.01

INDICE Pagina

1. APPLICAZIONE CLINICA 54
2. BACKGROUND CLINICO 54
3. PRINCIPIO DEL TEST 54
4. AVVERTENZE E PRECAUZIONI 55
5. RACCOLTA E MANIPOLAZIONE DEI CAMPIONI 55
6. CONTENUTO DEL KIT, PREPARAZIONE DEI REAGENTI E STABILITÀ DEI MATERIALI FORNITI 56
   6.1. Micropiastra 56
   6.2. Concentrato di tampone di lavaggio (x 10) 56
   6.3. Tampone di diluizione 56
   6.4. Bianco 56
   6.5. Calibratori 56
   6.6. Controllo 57
   6.7. Soluzione coniugata 57
   6.8. Soluzione di substrato 57
   6.9. Soluzione di arresto 57
   6.10. Copertura per incubazione 57
   6.11. Instruzioni per l'uso 57
7. MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI 57
8. CONSERVAZIONE E STABILITÀ 58
9. PROCEDURA DEL TEST 58
10. RISULTATI 59
   10.1. Valori per il controllo della qualità 59
   10.2. Calcolo dei risultati 60
   10.3. Prevalenza 61
   10.4. Interpretazione dei risultati 61
11. LIMITI DELLA PROCEDURA 61
12. CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI 61
13. DATA DI PUBBLICAZIONE 64
14. GARANZIA 64
15. BIBLIOGRAFIA 65
16. INFORMAZIONI PER LE ORDINAZIONI 67
17. BREVE ILLUSTRAZIONE DELLA PROCEDURA 72

APPENDICE: CERTIFICATO DI CONTROLLO DELLA QUALITÀ

Linealidad:
Se analizaron tres muestras de suero en diluciones seriadas con el tampón diluyente para determinar la linealidad de ELISA para pepsinógeno I de Biohit. Los resultados aparecen en la siguiente tabla.

Muestra	Factor de dilución	Observado (µg/l)	Esperado (µg/l)	Recuperación (%)
1	1	212,4	-	-
	2	105,4	106,2	99
	4	52,8	53,1	99
2	1	146,4	-	-
	2	72,8	73,2	99
	4	39,3	36,6	107
3	1	59,0	-	-
	2	29,7	29,5	101
	4	14,8	14,7	101

13. FECHA DE EMISIÓN

Inserto del conjunto para Pepsinógeno I.
Versión 01, 1 de abril de 2004.

14. GARANTÍA

El Fabricante debe reparar todo defecto descubierto en cualquier Producto (el "Producto defectuoso") que sea el resultado de materiales inadecuados o fabricación negligente y que impida el funcionamiento mecánico o el uso previsto para el Producto, lo cual incluye, pero no se limita a, las funciones indicadas en las especificaciones de los Productos del Fabricante. SIN EMBARGO, TODA GARANTÍA SERÁ CONSIDERADA NULA SI SE DETERMINA QUE EL PROBLEMA SE PRODUJO A CAUSA DE MALTRATO, USO INCORRECTO, DAÑO ACCIDENTAL, ALMACENAMIENTO INCORRECTO O UTILIZACIÓN DE PRODUCTOS PARA OPERACIÓN MÁS ALLÁ DE SUS LIMITACIONES ESPECIFICADAS O MÁS ALLÁ DE SUS ESPECIFICACIONES QUE CONTRAVENGAN LAS INSTRUCCIONES INDICADAS EN EL MANUAL DE INSTRUCCIONES.

El período de esta garantía para el Distribuidor se indica en el manual de instrucción de los Productos y comenzará a partir de la fecha correspondiente al envío del Producto por parte del Fabricante. En caso de que se produzcan desacuerdos relacionados con la interpretación se aplica el texto en inglés.

Todos los conjuntos Biohit Diagnostics han sido fabricados en conformidad con nuestros protocolos de gestión de calidad ISO 9001/ISO 13485 y han pasado todos los procedimientos de Aseguramiento de la calidad correspondientes relacionados con estos productos.

Die genaue PG-I Konzentration ist auf dem Fläschchen aufgedr uckt.
Vorbereitung: gebrauchsfertig.
Haltbarkeit: siehe aufgedrucktes Verfallsdatum.

6.7. Konjugatlösung

Inhalt: 15 ml HRP-konjugiertes Anti-Human-PG-I in einer stabilisierenden Pufferlösung.
Vorbereitung: gebrauchsfertig.
Haltbarkeit: siehe aufgedrucktes Verfallsdatum.

6.8. Substratlösung

Inhalt: 15 ml Tetramethylbenzidin (TMB) in Pufferlösung mit Konservierungsmittel
Vorbereitung: gebrauchsfertig.
Haltbarkeit: siehe aufgedrucktes Verfallsdatum. Direkte Lichtaussetzung sollte vermieden werden.

6.9. Stopplösung

Inhalt: 15 ml 0,1 mol/l Schwefelsäure
Vorbereitung: gebrauchsfertig.
Haltbarkeit: siehe aufgedrucktes Verfallsdatum.

6.10. Abdeckfolien

Vier Klebefolien zum Abdecken der Mikrotiterplatten während der Inkubation.

6.11. Testanleitung

7. ZUSÄTZLICH ERFORDERLICHES ARBEITSMATERIAL

- Destilliertes oder entionisiertes Wasser
- Präzisionspipetten und Wegwerfspitzen für 5-1000 µl
- Pipetten für 1-10 ml
- -Kanalpipette für 100 µl
- Messzylinder für 1000 ml
- Vortexer zum Mischen der Verdünnungen
- Verdünnungsröhrchen
- Plattenwascher
- Fliesspapier
- Uhr
- Inkubator, 37 °C
- Plattenreader, 450 nm
- Wasserbad, 56 °C
- Blutentnahmeröhrchen für Serum oder Plasma
- Eisbehälter

8. LAGERUNG UND STABILITÄT

Der Pepsinogen I Test muss gekühlt (2...8 °C) gelagert werden. Wird diese Temperatur eingehalten, bleibt der Test bis zum Verfallsdatum, der auf der Packung und jeder einzelnen Komponente aufgedruckt ist, stabil. Bitte den Test nicht einfrieren oder höheren Temperaturen über 8°C aussetzen. Die Substratlösung ist sehr lichtempfindlich. Die Mikrotiterplatte und die einzelnen Streifen sollten nicht vor dem Erreichen der RT (20...25 °C) aus der Folienverpackung herausgenommen werden. Die Streifen, die nicht sofort verwendet werden, müssen wieder kühl bei 2...8 °C gelagert werden.

Nach dem Verfallsdatum sollen die Reagenzien nicht mehr verwendet werden. Die Reagenzien unterschiedlicher Chargen oder anderer Hersteller dürfen nicht eingesetzt werden. Die einzelnen Komponenten dieses Tests sind auf eine präzise Konzentration eingestellt und aufeinander abgestimmt worden. Weitergehende Verdünnungen oder andere Änderungen, beeinträchtigen die Richtigkeit der Ergebnisse.

Anzeichen eines Verfalls der Reagenzien
Die Testkomponenten sollten keinerlei sichtbare Trübung oder Zeichen einer Ausfällung aufweisen. Bei der Lagerung des Waschpufferkonzentrats bei 2-8°C ist ein Ausfallen bzw. eine Flockung möglich, sollte sich aber unter Mischen bei RT (20...25 °C) wieder auflösen. Die Substratlösung ist farblos bis hellblau, andere Verfärbungen sind Anzeichen des Verfalls.

9.TESTDURCHFÜHRUNG

VORBEREITUNG
Alle Reagenzien und die Mikrotiterplatte auf Raumtemperatur (20...25°C) bringen, Inkubator auf 37°C vorwärmen. Waschpufferlösung 1:10 (z.b.100ml + 900ml) mit destilliertem Wasser verdünnen. Bitte die Testanleitung vor dem Ansetzen vollständig durchlesen. Es wird empfohlen, den Standard, die Kontrollen und Proben als Doppelbestimmung durchzuführen. In jedem Ansatz müssen Standard und Kontrollen angesetzt werden.

Alle Reagenzien vor Gebrauch sorgfältig mischen.

PROBENVERDÜNNUNG
Die Serumproben müssen im Verhältnis 1:10 (z.B.50 µl+450 µl) mit Verdünnungspuffer verdünnt werden, gut mischen.

ARBEITSSCHRITT I
Pipettieren Sie je 100 µl BLANK-Lösung (B), der gebrauchsfertigen Standards (STD-1, STD-2 u.s.w.), der PG-I Kontrolle (K) und der verdünnten Proben (P1,P2 etc.) als Doppelbestimmung (siehe PIPETTIERSCHEMA). Decken Sie die Platte mit Abdeckfolie ab und inkubieren sie für 60 Minuten bei +37°C.

Sensibilidad:
La sensibilidad de la prueba se determinó en dos formas distintas:

1) Dilución de un calibrador del conjunto con una concentración de PGI de 10,0 µg/l con tampón diluyente, que dio como resultado un límite de CV de 10% a una concentración de 0,6 µg/l.
2) Media de 25 réplicas de cero + 2 desviaciones estándar que equivale a un PGI de 1,9 µg/l.

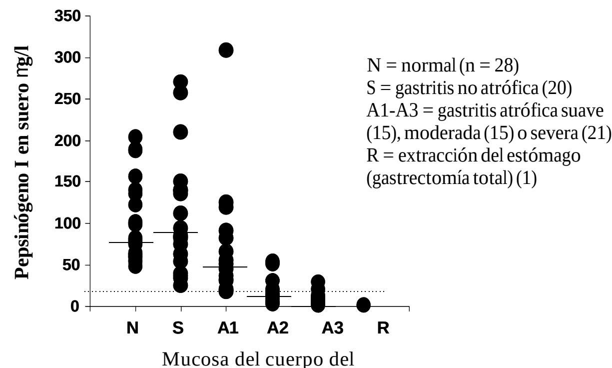
Recuperación:
A cuatro muestras de suero se les agregó 6,2; 31,0 y 60,8 µg/l de pepsinógeno I humano (PGI humano purificado, Biohit Diagnostics).

La recuperación promedio fue:

6,2 µg/l	97,5%
31,0 µg/l	89,1%
60,8 µg/l	72,6%

Correlación: se apreció una correlación con la relación entre los niveles séricos de pepsinógeno I y el estado histológico de la mucosa del cuerpo del estómag o (18).

Pepsinógeno I en suero y mucosa del cuerpo del estómago; estudio de control de caso finlandés



Imprecisión entre análisis:
La imprecisión entre análisis se evaluó en seis análisis, utilizando cuatro muestras de suero. La concentración de PGI de estas muestras se midió como duplicados.

Muestra	Media de PGI (µg/l)	CV %
1	10,3	4,9
2	47,4	3,0
3	80,4	3,4
4	133,9	2,9

Especificidad / reactividad cruzada:
A fin de probar la reacción cruzada y la interferencia por PGII, a tres muestras de suero se agregó PGII (compañía Z) en concentraciones de hasta 200 µg/l. La prueba no arrojó aumentos ni reducciones importantes en la señal de las muestras con una concentración de PGII de 200 µg/l.

Muestra	PGII agregado (mg/l en muestra)	PGI observado (mg/l)	Agregado/ 0-muestra (%)
1	-	4,2	-
	10	4,2	100
	50	4,4	105
	200	4,4	105
2	-	26,3	-
	10	24,6	93,5
	50	27,3	104,0
	200	24,5	93,2
3	-	56,2	-
	10	59,6	106,0
	50	60,9	108,0
	200	53,3	94,8
4	-	72,7	-
	10	70,8	97,4
	50	72,5	99,7
	200	71,9	98,9
5	-	100,1	-
	10	98,3	98,2
	50	99,9	99,8
	200	98,7	98,6

Abbildung 1. Pipettierschema.

	1	2	3	4
A	B	B		
B	STD-1	STD-1		
C	STD-2	STD-2		
D	STD-3	STD-3		
E	K	K		
F	P1	P1		
G	P2	P2		
H	P3	P3		

WASCHSCHRITT
Waschen Sie die Streifen mit 3 x 350 µl der verdünnten Waschlösung. Anschließend wird die Platte behutsam auf Fließpapier ausg eklopft.

ARBEITSSCHRITT II
Pipettieren Sie 100 µl der gut gemischten Konjugatlösung in alle Vertiefungen (vorzugsweise mit einer 8-Kanal-Pipette). Decken Sie die Platte wieder mit der Abdeckfolie ab und inkubieren Sie für 30 Minuten bei +37°C.

WASCHSCHRITT
Siehe Waschschritt oben.

ARBEITSSCHRITT III
Pipettieren Sie 100 µl der gut gemischten Substratlösung in alle Vertiefungen (vorzugsweise mit einer 8-Kanal-Pipette). 30 Minuten bei Raumtemperatur (20...25°C), ausgehend von der ersten Vertiefung inkubieren. Während der Inkubation die Platte vor Licht schützen.

ARBEITSSCHRITT IV
Beenden Sie die Enzym-Substrat-Reaktion durch die Zugabe von 100 µl Stopplösung in jede Vertiefung mit einer 8-Kanal-Pipette

MESSUNG
Messen Sie die Absorption bei 450 nm innerhalb 30 Minuten.

10. ERGEBNISSE

10.1. Qualitätskontrolle
Um eine gute Laborroutine zu gewährleisten ist der Einsatz von Kontrollen erforderlich. Der Gastrin-17 Test enthält eine Kontrolle. Die ermittelten Werte der Kontrollen sollten graphisch dokumentiert werden um die Durchführungen zu

verfolgen. Zur Auswertung der Kontrollwerte sollte eine geeignete statistische Methode gewählt werden. Jedes Labor sollte für die Kontrollwerte seine eigenen Vertrauensbereiche festlegen.

10.2. Berechnung der Ergebnisse

Die Ergebnisse können entweder mit einer a) manuellen Methode oder auf einem b) Automatensystem ermittelt werden, mit der Möglichkeit die gemessenen Absorptionswerte in Pepsinogen-I Konzentrationen umzuwandeln.

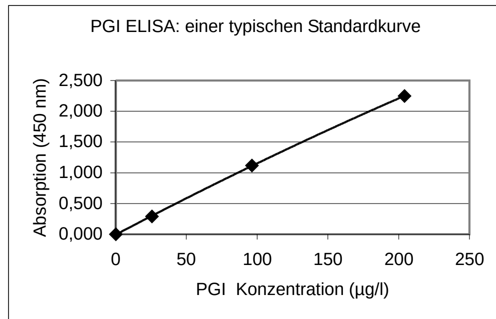
a) Manuelle Methode

Errechnen Sie von jeder Probe, Kontrolle und Standard den Mittelwert der gemessenen Absorption. Danach den gemittelten Absorptionswert der Blanklösung von sich selbst abziehen (beachten Sie, dass dies der erste Punkt auf der Standardkurve ist) ebenso von den Standards, den Kontrollen und den Proben. Die graphische Darstellung der Standardkurve soll mit den gemittelten Absorptionswerte des ersten Punktes und jeden Standards auf der (y-Achse), gegen die Pepsinogen-I Konzentration auf der (x-Achse) erfolgen. Zur Interpolation der Pepsinogen-I Werte, sollte der gemittelte Absorptionswert jeder Probe und Kontrolle verwendet werden.

b) Automatensystem

Es gibt verschiedene PC-Programme zum Interpolieren der unbekannten Konzentrationen. Zum Beispiel das einfache' 2nd polynominal fit' wäre geeignet. Wenn der Absorptionswert der Probe höher ist als der Wert des höchsten Standards, empfiehlt sich die Wahl eines komplexeren extrapolierenden Algorithmus. Ein Beispiel einer typischen Standardkurve ist sehen sie in Abbildung 2.

Abbildung 2. Beispiel einer typischen Standardkurve.



10.3. Prevalencia

En una población de más edad (personas sobre los 50 años), el 10% presenta una gastritis atrófica avanzada del cuerpo del estómago y niveles anormales de S-PGI (S-PGI < 25 µg/l). Aproximadamente el 5% de estos pacientes presenta cáncer gástrico o lesiones precancerosas en la endoscopía (7).

10.4. Interpretación de los resultados

- Un resultado de S/P-PGI bajo (S/P-PGI < 25 µg/l) indica una gastritis atrófica avanzada (moderada y severa) de la mucosa del cuerpo del estómago. Este nivel discriminante se ha determinado con el uso del conjunto ELISA para pepsinógeno I de Biohit, sobre la base de gran cantidad de material clínico. Un S/P-PGI bajo es un indicador para realizar la endoscopía gastrointestinal superior (gastroscopía), ya que estos pacientes presentan un mayor riesgo de desarrollar lesiones precancerosas y cáncer gástrico.
- Se recomienda considerar los límites entregados como pautas. Asimismo, los resultados de PGI determinados para una muestra dada con análisis de diferentes fabricantes pueden variar debido a diferencias de estandarización, métodos de análisis y especificidad de los reactivos. Los resultados obtenidos utilizando métodos de análisis de otros fabricantes no deben usarse en forma intercambiable.
- Este análisis ELISA para pepsinógeno I posibilita un amplio espectro de mediciones de concentraciones altas y bajas de S/P-PGI.

11. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Como cualquier procedimiento de diagnóstico, los resultados de ELISA para pepsinógeno I de Biohit se deben interpretar en conjunto con la presentación clínica del paciente y con cualquier otra información disponible para el médico.

Las muestras que se sospecha que tienen concentraciones de PGI mayores que el calibrador más alto se deben diluir más (dilución final a 1:20) antes del análisis.

12. CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

Imprecisión dentro del análisis:

La imprecisión dentro del análisis se determinó utilizando cuatro muestras de suero. Dichas muestras se trabajaron como 17 réplicas en una ejecución.

Muestra	Media de PGI (µg/l)	CV %
1	9,3	5,9
2	31,3	3,0
3	78,1	2,4
4	137,2	2,4

La prueba ELISA para pepsinógeno I incluye el suero de control. Es recomendable llevar gráficos de control de calidad para seguir el desempeño del control o bien, deben utilizarse métodos estadísticos apropiados para analizar los valores de control. Dichos valores deben estar entre los intervalos de confianza correspondientes utilizados en cada laboratorio.

10.2. Cálculo de los resultados

Los resultados de la prueba se pueden analizar utilizando a) un sistema automatizado o b) métodos manuales, en los cuales las lecturas de absorción se convierten a concentraciones de pepsinógeno I.

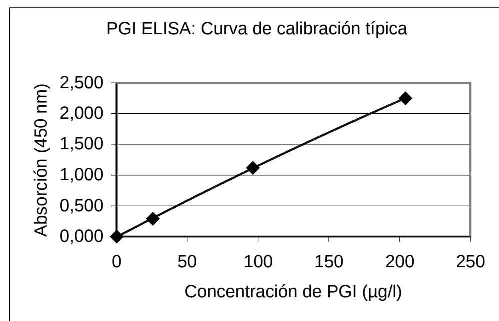
a) Método manual

Calcule la absorción media de las determinaciones duplicadas de la solución blanco, los calibradores, el control y las muestras. Reste la media de la solución blanco a ella misma (utilice éste como el primer punto de la curva de calibración), los calibradores, el control y las muestras. Grafique la curva de calibración, marcando la absorción media para el primer punto y para cada calibrador (eje y) contra las concentraciones de PGI proporcionadas por los calibradores (eje x). Trace una curva de mejor ajuste para elaborar una curva de calibración. Utilice el control y el valor de absorción media de cada muestra para interpolar el valor de PGI de la curva de calibración.

b) Métodos automatizados

Existe una serie de programas informáticos para la interpolación automática de concentraciones desconocidas. Un simple ajuste polinomial de segundo orden es adecuado para la interpolación de concentraciones desconocidas dentro del rango del calibrador. Sin embargo, si los valores de absorción de las muestras exceden el valor de absorción del mayor calibrador, puede ser necesario utilizar un algoritmo de extrapolación más complejo. En la Figura 2 se muestra una curva de calibración típica.

Figura 2. Ejemplo de una curva de calibración típica.



10.3. Prävalenz

Bei älteren Menschen (über 50 Jahre) zeigen 10 % eine fortgeschrittene, atrophische Gastritis und anormale S-PGI-Werte (<25 µg/l). Bei Ungefähr 5% dieser Patienten konnte durch eine Endoskopie Magenkrebs oder Gewebsveränderungen des Krebsfrühstadiums beobachtet werden(7).

10.4. Interpretation der Ergebnisse

- Niedrige S/P-PGI-Werte (< 25µg/l) indizieren eine fortgeschrittene, atrophische Gastritis der Magenschleimhaut im Korpus. Die Cut-off Werte wurden mit dem Biohit Pepsinogen-I ELISA Test erstellt, basierend auf grossen klinischen Studien. Der niedrige S/P-PGI-Wert ist ein Indikator für die Notwendigkeit einer Gastroskopie des oberen Gastrointestinaltrakts, da für diese Patienten ein höheres Risiko besteht Magenkrebs zu entwickeln.

- Die empfohlenen Grenzbereiche sind als eine Richtschnur zu betrachten. Ebenso können PG-I Ergebnisse anderer Hersteller variieren, da Unterschiede in der Standarisierung, in der Testmethode und der Reagenzienspezifität bestehen können. Die Ergebnisse, die mit Testen anderer Hersteller ermittelt worden sind, dürfen nicht untereinander ausgetauscht werden.

- Der Pepsinogen-I Test hat einen weiten Messbereich und ermöglicht die Bestimmung niedriger und hoher S/P-PG-I Konzentrationen.

11. GRENZEN DES VERFAHRENS

Wie bei jedem anderen diagnostischen Verfahren, müssen die Ergebnisse des Biohit PG-I ELISA Tests, zusammen mit dem klinischen Bild des Patienten und weiteren, verfügbaren Informationen des Arztes, interpretiert werden.

Proben, bei denen PG-I -Konzentrationen über den höchsten Standard hinaus erwartet werden, müssen vor dem Einsatz verdünnt werden. (Maximale Verdünnung 1:20)

12. TESTSPEZIFIKATIONEN

Intra-Assay-Präzision:

Die Intra-Assay -Präzision wurde mit 4 Proben als 17-fach Bestimmung getestet.

Probe	Mittelwert PG-I µg/l	VK %
1	9,3	5,9
2	31,3	3,0
3	78,1	2,4
4	137,2	2,4

Inter-Assay-Präzision:

Die Intra-Assay-Präzision wurde in 6 Ansätzen mit 4 Proben getestet. Die PG-I Konzentration dieser Proben wurde als Doppelwert gemessen.

Probe	Mittelwert PG-I µg/l	VK%
1	10,3	4,9
2	47,4	3,0
3	80,4	3,4
4	133,9	2,9

Spezifität und Kreuzreaktivität:

Die Kreuzreaktivität mit dem PG-II und die damit verbundene Störeinflüsse wurden mit 5 gespikten (PG-II der Firma Z) Proben bis zur Konzentration von 200 µg/l getestet.

Probe	PG-II Zugabe (mg/l in Probe)	PG-I gemessen (mg/l)	Zugabe/ 0-Probe(%)
1	-	4.2	-
	10	4.2	100
	50	4.4	105
	200	4.4	105
2	-	26.3	-
	10	24.6	93.5
	50	27.3	104.0
	200	24.5	93.2
3	-	56.2	-
	10	59.6	106.0
	50	60.9	108.0
	200	53.3	94.8
4	-	72.7	-
	10	70.8	97.4
	50	72.5	99.7
	200	71.9	98.9
5	-	100.1	-
	10	98.3	98.2
	50	99.9	99.8
	200	98.7	98.6

PASO I

Mezcle y utilice la pipeta para agregar 100 µl de solución blanco (SB), los calibradores (CAL1-CAL3), el control y las muestras diluidas (M1, M2, etc.) en los pocillos como duplicados (vea la figura 1). Cubra la placa con la cubierta de incubación. Incube durante 60 minutos a 37 °C.

Figura 1. Orden de las pipetas.

	1	2	3	4	5
A	SB	SB			
B	CAL1	CAL1			
C	CAL2	CAL2			
D	CAL3	CAL3			
E	Control	Control			
F	M1	M1			
G	M2	M2			
H	etc.	etc.			

LAVADO

Lave los pocillos tres veces con 350 µl de tampón de lavado diluido (1:10) y dé unos golpecitos suaves a la placa invertida sobre una toalla de papel limpia.

PASO II

Utilice una pipeta, de preferencia de 8 canales, para agregar a los pocillos 100 µl de la solución conjugada mezclada. Cubra la placa con la cubierta de incubación. Incube durante 30 minutos a 37 °C.

LAVADO

Consulte el procedimiento de lavado del PASO I.

PASO III

Utilice una pipeta de 8 canales para agregar a los pocillos 100 µl de la solución de sustrato mezclada. Inicie el tiempo de incubación después de agregar con la pipeta la solución de sustrato en la primera tira y continúe la incubación durante 30 minutos a temperatura ambiente (20 a 25 °C). Evite la exposición directa a la luz durante la incubación.

PASO IV

Utilice una pipeta de 8 canales para agregar a los pocillos 100 µl de la solución de interrupción mezclada.

MEDICIÓN

Mida la absorción a 450 nm dentro de 30 minutos.

10. RESULTADOS

10.1. Valores de control de calidad

Las buenas prácticas de laboratorio exigen el uso de controles apropiados que permitan determinar que todos los reactivos y protocolos funcionan tal como han sido diseñados.

- Incubador, 37 °C
- Lector de microplacas, 450 nm
- por ejemplo, tubo de ensayo plástico para recolectar la sangre para suero o plasma
- Contenedor para hielo

8. ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Almacene el conjunto para pepsinógeno I refrigerado (2 a 8 °C). Cuando se conserva a estas temperaturas, el conjunto es estable hasta la fecha de vencimiento impresa en la etiqueta de la caja y en la etiqueta de cada componente del conjunto. No congele ni exponga el conjunto a altas temperaturas, ni conserve a más de 8 °C cuando no esté en uso. La solución de sustrato es sensible a la luz. La microplaca o tiras individuales no se deben retirar de la bolsa hasta que estén a temperatura ambiente (20 a 25 °C). Las tiras no utilizadas se deben guardar en la bolsa, sellar y almacenar entre 2 a 8 °C.

No utilice reactivos después de la fecha de vencimiento impresa en la etiqueta. No utilice reactivos de conjuntos con diferentes números de lote ni reactivos sustitutos de conjuntos de otros fabricantes. Utilice solamente agua destilada o desionizada. Los componentes del conjunto se proporcionan en concentraciones precisas. Diluciones posteriores u otras alteraciones de los reactivos pueden provocar resultados incorrectos.

Indicaciones de deterioro del conjunto
Los componentes líquidos no deben estar visiblemente turbios ni contener material precipitado. Sin embargo, entre 2 a 8 °C, el concentrado de tampón de lavado puede cristalizarse parcialmente, pero los cristales se disolverán mezclando a temperatura ambiente (20 a 25 °C). La solución de sustrato debe ser incolora o azul claro. Cualquier otro color indica deterioro de la solución de sustrato.

9. PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

PREPARACIONES PRELIMINARES
Permita que todos los reactivos y la microplaca alcancen la temperatura ambiente (20 a 25 °C). Caliente el incubador hasta 37 °C. Diluya el concentrado de tampón de lavado a 1:10 (por ejemplo, 100 ml + 900 ml) con agua destilada o desionizada. Lea el procedimiento completo del análisis antes de comenzar. Se recomienda que todos los calibradores y muestras se apliquen en la placa como duplicados. Es necesario utilizar calibradores y el control en cada prueba realizada.

Mezcle bien todos los reactivos y las muestras antes de su uso.

DILUCIÓN DE LA MUESTRA
Diluya las muestras mezcladas de suero o plasma a 1:10 (50 µl + 450 µl) con el tampón diluyente, mezcle bien.

Sensitivität:
Die Sensitivität des Tests auf zwei verschiedene Weise ermittelt:

1) Eine Verdünnungsreihe des 10,0 µg/l Standards mit Verdünnungspuffer ergab bei der Konzentration 0,6 µg/l einen VK von 10 %.
2) Der Mittelwert aus 25-facher Bestimmung der Nullwerte mit Standardabweichung 2 , entspricht 1,9 µg/l.

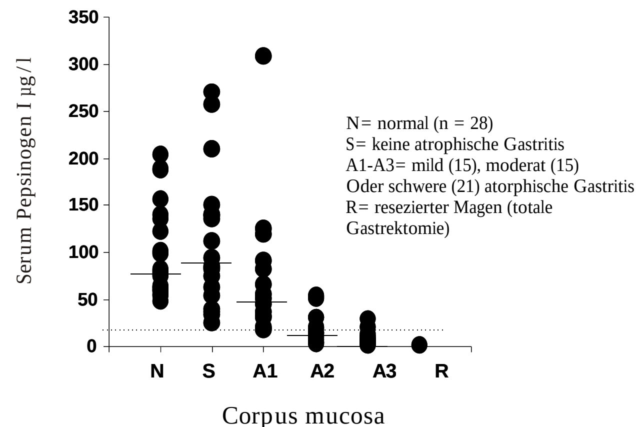
Wiederfindung:
Vier Serumproben wurden mit 6,2 , 31,0 und 60,8 µg/l humanen Pepsinogen I (gereinigtes PG-I, Biohit Diagnotics) gespiked.

Gemittelte Werte der Wiederfindung:

6,2 µg/l	97,5 %
31,0 µg/l	89,1 %
60,8 µg/l	72,6 %

Korrelation mit anderen Methoden:
Eine besteht eine Korrelation zwischen der Serumkonzentration des Pepsinogen-I und dem histologischen Status der Magenschleimhaut(18).

Serumkonzentration Pepsinogen-I und Magenschleimhaut des Korpus
Finnische Fall-Kontrollstudie



Linearität:
Mit einer Verdünnungsreihe von drei Seren mit Verdünnungspuffer wurde die Linearität des Biohit Pepsingen-I ELISA ermittelt. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle dargestellt.

Probe	Verdünnungs-faktor	Gemessen (µg/l)	Erwartet (µg/l)	Wiederfindung (%)
1	1	212.4	-	-
	2	105.4	106.2	99
	4	52.8	53.1	99
2	1	146.4	-	-
	2	72.8	73.2	99
	4	39.3	36.6	107
3	1	59.0	-	-
	2	29.7	29.5	101
	4	14.8	14.7	101

13. AUSSTELLUNGSDATUM

Pepsinogen-I Testanleitung
Version 01, April 1, 2004.

14. GARANTIE

Der Hersteller haftet für alle Schäden des einzelnen Produkts (Produktschäden), die nachweislich durch fehlerhafte Materialien oder fahrlässige Arbeitsqualität entstanden sind und einschliesslich der, die die mechanische Funktion oder die Anwendung des Produkts verhindern. Aber begrenzt auf Funktionen, die in der Produktspezifikation des Herstellers definiert sind. DIE GARANTIR ERLISCHT BEI SCHÄDEN DIE AUF UNSACHGEMÄSSE BEHANDLUNG, MISSBRAUCH, ZERSTÖRUNG, ODER AUF FALSCHE LAGERUNG ZURÜCKZUFÜHREN SIND, ODER DIE PRODUKTE AUSSERHALB IHRER SPEZIFIZIERTEN EINSCHRÄNKUNGEN UND ENTGEGEN DEN ANWEISUNGEN IN DER TESTANLEITUNG VERWENDET WERDEN.

Die Dauer dieser Garantie für den Vertriebshändler ist in der Testanleitung des Produktes definiert und beginnt mit dem Versanddatum des relevanten Produktes durch den Hersteller. Im Falle einer streitigen Interpretation gilt der englische Text.

Alle diagnostischen Teste von Biohit wurden nach unseren ISO 9001 / ISO 13485 Qualitätsmanagementprotokollen hergestellt und haben alle relevanten Qualitätssicherungsverfahren bestanden.

aproximadamente 25, 100 y 200 µg/l. La concentración exacta de PGI de los calibradores se indica en la etiqueta de los frascos.
Preparación: listo para usar.
Estabilidad: estable hasta la fecha de vencimiento.

6.6. Control
Contenido: un frasco que contiene 1,5 ml de control de PGI basado en suero humano con preservante. El nivel esperado de PGI del control se indica en la etiqueta.
Preparación: listo para usar.
Estabilidad: estable hasta la fecha de vencimiento.

6.7. Solución conjugada
Contenido: 15 ml de PGI antihumano monoclonal conjugado para HRP en tampón estabilizador.
Preparación: listo para usar.
Estabilidad: estable hasta la fecha de vencimiento.

6.8. Solución de sustrato
Contenido: 15 ml de tetrametilbenzidina (TMB) en un tampón que contiene preservante.
Preparación: listo para usar.
Estabilidad: estable hasta la fecha de vencimiento. Evitar la exposición a la luz directa.

6.9. Solución de interrupción
Contenido: 15 ml de ácido sulfúrico a 0,1 mol/l.
Preparación: listo para usar.
Estabilidad: estable hasta la fecha de vencimiento.

6.10. Cubiertas de incubación
Cuatro láminas de plástico para cubrir la microplaca durante la incubación.

6.11. Instrucciones de uso

7. MATERIALES NECESARIOS, PERO NO PROPORCIONADOS

- Agua destilada o desionizada
- Micropipetas y boquillas desechables, para proporcionar con precisión 20 a 1000 µl
- Pipetas para proporcionar con precisión 1 a 10 ml
- Pipeta de 8 canales que proporcione 100 µl
- Tubo graduado, 1000 ml
- Mezclador Vortex para dilución de muestras
- Tubos de ensayo para dilución de muestras
- Lavador de microplacas
- Toallas de papel o papel absorbente
- Cronómetro

separan de inmediato mediante centrifugación (por ejemplo, tubo de ensayo plástico, aceleración hasta 2000 G, 10 a 15 minutos). El suero y el plasma se pueden almacenar refrigerados (2 a 8 °C). Para una conservación prolongada, las muestras se deben almacenar congeladas (de preferencia a -70 °C o como alternativa, a -20 °C). Una vez descongeladas las muestras, mézclelas cuidadosamente. Evite el congelamiento y descongelamiento repetido de las muestras. No se deben utilizar muestras demasiado hemolizadas, lipémicas o turbias.

Si prueba los análisis ELISA GastroPanel de Biohit (anticuerpos IgG contra *Helicobacter pylori*, Pepsinógeno I, Pepsinógeno II, Gastrina-17) de la misma muestra, consulte las instrucciones de uso de ELISA para Gastrina-17 de Biohit.

6. CONTENIDO DEL CONJUNTO, PREPARACIÓN DEL REACTIVO Y ESTABILIDAD DE LOS MATERIALES PROPORCIONADOS

Los reactivos son suficientes para 96 pocillos. Los reactivos de diferentes conjuntos no se deben mezclar.

6.1. Microplaca
Contenido: tiras de 12 x 8 en trama recubiertas con anticuerpo IgG_1 PGI antihumano monoclonal de alta afinidad.
Preparación: listo para usar.
Estabilidad: estable hasta la fecha de vencimiento. Elimine las tiras utilizadas.

6.2. Concentrado de tampón de lavado (x 10)
Contenido: 120 ml de 10 x concentrado de tampón de fosfato que contiene Tween 20 y preservante.
Preparación: diluya a 1:10 (por ejemplo, 100 ml + 900 ml) con agua destilada y mezcle bien.
Estabilidad: la solución diluida es estable durante dos semanas en refrigeración (2 a 8°C).

6.3. Tampón diluyente
Contenido: 100 ml de tampón de fosfato que contiene seroalbúmina bovina, Tween 20, preservante y extracto de tinte rojo.
Preparación: listo para usar.
Estabilidad: estable hasta la fecha de vencimiento.

6.4. Solución blanco
Contenido: un frasco que contiene 1,5 ml de tampón de fosfato basado en suero humano con preservante.
Preparación: listo para usar.
Estabilidad: estable hasta la fecha de vencimiento.

6.5. Calibradores
Contenido: tres frascos con 1,5 ml de calibradores basados en suero humano con preservantes. Los calibradores poseen valores de PGI específicos de lote de

NOTICE D'UTILISATION

ELISA Pepsinogène I — Cat. N° 601 010. 01

SOMMAIRE — Page

1. INDICATION 30
2. CONTEXTE CLINIQUE 30
3. PRINCIPE DU TEST 30
4. MISES EN GARDE ET PRECAUTIONS 31
5. PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS 31
6. CONTENU DU COFFRET; PREPARATION ET STABILITE DES REACTIFS 32
   6.1. Plaque de microtitration 31
   6.2. Solution de lavage concentrée (10x) 31
   6.3.Tampon de dilution 31
   6.4. Solution de blanc 32
   6.5. Calibreurs 32
   6.6. Contrôle 33
   6.7. Solution de conjugué 33
   6.8. Solution de substrat 33
   6.9. Solution d'arrêt 33
   6.10. Films d'incubation 33
   6.11. Notice d'utilisation 33
7. MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI 33
8. CONSERVATION ET STABILITE 34
9. MODE OPERATOIRE 34
10. RESULTATS 35
   10.1. Valeurs du contrôle qualité 35
   10.2. Calcul des résultats 36
   10.3. Prévalence 37
11. LIMITES DE LA PROCEDURE 37
12. CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES 37
13. DATE DE PUBLICATION 38
14. GARANTIE 38
15. REFERENCES 65
16. INFORMATIONS COMMERCIALES 67
17. RESUME DE LA PROCEDURE 72

ANNEXE: CERTIFICAT DE CONTROLE DE QUALITE

1. INDICATION

Ce test basé sur une réaction immuno-enzymatique sur microplaque (ELISA) permet le dosage quantitatif du pepsinogène I humain dans le sérum ou le plasma de patients.

2. CONTEXTE CLINIQUE

Ce test sert à identifier les patients qui présentent une gastrite atrophique avancée au niveau du corpus gastrique et qui sont par conséquent exposés à un risque accru de cancer de l'estomac (1, 2). Le dosage de PGI du sérum ou du plasma (S-PGI, P-PGI) est un outil fiable pour détecter les patients atteints d'une gastrite atrophique avancée du corpus (3-6), puisque la sensibilité et la spécificité du test se situent à 92% et 90% respectivement.

Le Pepsinogène I (PGI) est le précurseur d'une enzyme : la pepsine. Il est synthétisé par les cellules principales et les cellules du collet du corpus gastrique (par les glandes dites à sécrétion acide de la muqueuse gastrique). La plus grande partie du PGI est sécrétée dans la lumière gastrique mais on peut en retrouver une petite quantité dans le sang. Il existe une corrélation fiable entre le niveau de S/P-PGI et le nombre de cellules principales dans la muqueuse du corpus gastrique. Par conséquent, une perte des cellules principales aboutit à une diminution linéaire du S/P-PGI. D'autre part, la perte de ces cellules est la conséquence d'une gastrite atrophique.

Pour des raisons inconnues, la gastrite atrophique augmente le risque de cancer de l'estomac. Ce risque est multiplié par 5 pour des patients atteints de gastrite atrophique avancée au niveau du corpus et même multiplié par 90 pour les patients atteints de pangastrite atrophique avancée (*corpus et antrum atteints*), en comparaison avec le risque de cancer des personnes ayant une muqueuse gastrique normale (2).

En Finlande, un dépistage par le test S-PGI a été réalisé sur une population d'hommes d'âge moyen (50 à 69 ans) et fumeurs. Un taux faible de S-PGI (< 25 µg/l) a été mis en évidence pour 9,8 % d'entre eux, pour lesquels l'endoscopie a démontré que 4,7% étaient atteints soit d'un cancer de l'estomac soit d'une lésion précancéreuse (7). Des résultats similaires ont été publiés auparavant (8-17).

3. PRINCIPE DU TEST

Ce test ELISA du PGI est basé sur la méthode immuno-enzymatique de type sandwich utilisant d'une part un anticorps de capture spécifique du PGI, adsorbé sur les puits d'une microplaque et d'autre part un anticorps de détection marqué par la peroxydase de raifort (HRP).

Le test se déroule selon les étapes suivantes :

1. Un anticorps monoclonal spécifique du PGI humain, adsorbé sur la surface en polystyrène des puits, fixe les molécules de PGI présentes dans l'échantillon.
2. Les puits sont lavés pour retirer l'excès d'échantillon.

3. Se agrega un anticuerpo de detección monoclonal conjugado para HRP en los pocillos y éste se une a las moléculas de PGI.
4. Los pocillos se lavan y se agrega sustrato TMB. La enzima oxigena el sustrato y se forma un producto final de color azul.
5. Se termina la reacción enzimática con solución de interrupción. La solución que se encuentra en los micropocillos debe tomar un color amarillo. La intensidad del color amarillento desarrollado se relaciona directamente con la concentración de PGI en la muestra.

4. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Para uso diagnóstico *in vitro*

PRECAUCIÓN: manipule las muestras de plasma y suero como materiales con riesgo biológico potencial.

Todas las muestras deben ser consideradas potencialmente contaminadas y tratadas como si estuvieran infectadas. Consulte la publicación Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 1999, 4a ed. (CDC/NIH) y N° (CDC) 88-8395 del U. S. Department of Health and Human Services (Bethesda, MD., EE.UU.) sobre informes de procedimientos de seguridad en laboratorios ante diferentes enfermedades o cualquier otra regulación local o nacional.

Este conjunto contiene reactivos fabricados a partir de componentes sanguíneos humanos. Los materiales de origen proporcionados en este conjunto han sido probados para detectar la presencia de anticuerpos contra la hepatitis B y C, como también de anticuerpos contra el VIH, y se determinó que eran negativos. Sin embargo, en vista de que ningún método de prueba puede ofrecer total certeza de que estos patógenos estén ausentes, se recomienda seguir todas las precauciones recomendadas para la manipulación de derivados de la sangre.

Siempre utilice guantes protectores cuando manipule muestras de pacientes. Utilice un dispositivo para manipular las pipetas con seguridad. Nunca manipule las pipetas con la boca. Lea todas las instrucciones antes de realizar este análisis. Todos los reactivos del conjunto pueden ser eliminados vertiéndolos en un fregadero y dejando correr el agua.

5. RECOLECCIÓN Y MANIPULACIÓN DE MUESTRAS

Se recomienda que el paciente ayune durante 10 horas antes de tomar las muestras de sangre. La muestra de sangre se toma mediante punción venosa, por ejemplo, en un tubo de ensayo plástico para suero sin aditivos o tubo de ensayo de EDTA o heparina. Los tubos de sangre se mezclan inmediatamente, volteándolos de arriba a abajo 5 a 6 veces, y los tubos para suero se dejan a temperatura ambiente (20 a 25 °C) para permitir que coagulen (durante al menos 30 minutos). Tras la coagulación, el suero y el plasma se

1. USO PREVISTO

El conjunto para pepsinógeno I (PGI) es un análisis de inmunoabsorción enzimática (ELISA) cuantitativo basado en microplacas, que permite determinar la presencia del pepsinógeno I humano en muestras de suero o plasma.

2. ANTECEDENTES CLÍNICOS

Esta prueba tiene como objetivo identificar a pacientes que sufren de gastritis atrófica avanzada en el cuerpo del estómago y que, en consecuencia, presentan un mayor riesgo de desarrollar cáncer gástrico (1, 2). El análisis PGI (S-PGI, P-PGI) para suero o plasma constituye una herramienta confiable para detectar pacientes con este tipo de gastritis (3-6) y ofrece una sensibilidad y una especificidad de 92% y 90% respectivamente.

El pepsinógeno I (PGI) es una enzima precursora de la pepsina y se sintetiza mediante las células principales y del cuello del cuerpo del estómago (de las llamadas glándulas oxínticas de la mucosa gástrica). La mayor parte del PGI es secretada al lumen gástrico, sin embargo, se puede encontrar una pequeña cantidad en la sangre. El nivel de S/P-PGI se correlaciona en forma confiable con el número de células principales existentes en la mucosa del cuerpo del estómago. Como consecuencia, la pérdida de dichas células produce una disminución lineal del S/P-PGI. Por otra parte, la pérdida de células principales es resultado de la gastritis atrófica.

Por razones desconocidas, la gastritis atrófica aumenta el riesgo de cáncer gástrico, el riesgo es hasta cinco veces mayor en pacientes con gastritis atrófica avanzada del cuerpo del estómago e incluso hasta 90 veces en pacientes con pangastritis atrófica avanzada (comprometidos el antro y el cuerpo del estómago) en comparación con personas cuya mucosa gástrica es normal (2).

Exámenes realizados con la prueba S-PGI en Finlandia a hombres fumadores de mediana edad (50 a 69 años) indicaron que un 9,8 % de ellos presentaba un nivel bajo de S-PGI (<25µg/l), de los cuales un 4,7 % reveló presencia de cáncer gástrico o lesiones precancerosas a través de una endoscopia (7). Resultados equivalentes también se han publicado en estudios anteriores (8-17).

3. PRINCIPIO DE LA PRUEBA

Este método ELISA para PGI se basa en una técnica de enzimoinmunoanálisis tipo sándwich con un anticuerpo de captura específico de PGI absorbido en una microplaca y un anticuerpo de detección marcado con peroxidasa de rábano (HPR).

El análisis se realiza de acuerdo con las siguientes reacciones:

1. Un anticuerpo monoclonal, específico de PGI humano, en la superficie de poliestireno de los pocillos se une con las moléculas de PGI presentes en la muestra.
2. Los pocillos se lavan para eliminar la muestra residual.

3. L'anticorps de détection conjugué à la HRP est ajouté aux puits de la microplaque et se lie aux molécules de PGI.
4. Les puits sont lavés et le substrat TMB (TétraMéthylBenzidine) est ajouté. Ce substrat est oxydé par l'enzyme et donne un produit final coloré bleu.
5. La réaction enzymatique est stoppée par ajout de la solution d'arrêt. La solution dans les puits devient jaune. L'intensité de la coloration jaunâtre développée est directement proportionnelle à la concentration en PGI de l'échantillon.

4. MISES EN GARDE ET PRECAUTIONS

A n'utiliser que pour le diagnostic *in vitro*

ATTENTION : manipuler les échantillons de sérums et de plasma comme du matériel potentiellement dangereux.

Tous les échantillons doivent être considérés comme potentiellement contaminés et traités comme si ils étaient infectieux.
Se reporter à la publication du Ministère Américain de la Santé et des Services Sociaux (Bethesda, MD., USA) concernant les mesures de sécurité en laboratoires médicaux et de microbiologie : 1999, 4ème éd. (CDC/NIH) et à la publication n° (CDC) 88-8395 concernant les procédures de sécurité en laboratoire pour différentes maladies ou à toute autre réglementation locale ou nationale ainsi que la fiche de sécurité correspondante à ce kit.

Nos coffrets contiennent des réactifs fabriqués à partir de composants du sang humain. Les matières premières concernées ont donné des résultats négatifs aux tests de recherche des anticorps de l'hépatite B et C et des anticorps anti-VIH. Cependant, étant donné qu'aucune méthode ne peut garantir de façon absolue l'absence de ces éléments pathogènes, toutes les précautions recommandées pour la manipulation des dérivés du sang doivent être respectées.

Utiliser toujours des gants de protection lors de la manipulation des échantillons de patient. Utiliser un dispositif de pipetage de sécurité. Ne jamais pipeter avec la bouche. Lire toutes les instructions avant d'effectuer ce test. Tous les réactifs fournis dans ce kit peuvent être éliminés en les déversant dans l'évier et en rinçant excessivement avec l'eau du robinet.

5. PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS

La prise de sang est effectuée sur des personnes ayant jeûné pendant au moins 10 heures avant le prélèvement. Le sang est collecté dans un tube pour sérum en plastique sans additif ou dans un tube avec héparine ou EDTA. Les tubes sont homogénéisés immédiatement par retournement 5 à 6 fois. Pour le sérum les tubes sont laissés (minimum 30 minutes) à température ambiante (20-25°C) pour la coagulation. Le plasma est séparé immédiatement, et le sérum après coagulation, par une centrifugation (ex tube plastique : 2000g, 10-15 min). Le sérum ou plasma peut être conservé au réfrigérateur (2-8°C). Pour une conservation longue, les échantillons doivent être

fractionnés et congelés (de préférence à -70°C, sinon à -20°C). Bien homogénéiser les échantillons après la décongélation. Eviter les cycles répétés de congélation/ décongélation. Il est préférable de ne pas utiliser les échantillons hémolysés, lipidiques ou troubles.

Si vous testez sur le même échantillon tous les tests du GastroPanel Biohit (Pepsinogène I, Pepsinogène II, gastrine-17 et IgG *anti Helicobacter pylori*) referez-vous d'abord à la notice d'utilisation du dosage Elisa Gastrine-17.

6. CONTENU DU COFFRET ; PREPARATION ET STABILITE DES REACTIFS

La quantité de réactif est suffisante pour 96 puits. Les réactifs provenant de différents lots ne doivent pas être mélangés.

6.1. Plaque de microtitration
Contenu :un cadre porteur et 12 barrettes de 8 puits recouvertes d'un anticorps monoclonal (IgG_1) anti PGI humain, de haute affinité.
Préparation : Prêt à l'emploi.
Stabilité : Jusqu'à la date de péremption. Jeter les barrettes après utilisation.

6.2. Solution de lavage concentrée (10x)
Contenu : 120 ml de tampon phosphate concentré x10 contenant du Tween 20 et un conservateur.
Préparation : Diluer au 1 :10 (par exemple 100 ml + 900 ml) avec de l'eau distillée.
Stabilité : La solution diluée est stable pendant deux semaines au réfrigérateur (2-8°C).

6.3.Tampon de dilution
Contenu: 100 ml de tampon phosphate contenant de l'albumine bovine sérique, du Tween 20, un conservateur et un colorant rouge.
Préparation : Prêt à l'emploi.
Stabilité : Jusqu'à la date de péremption.

6.4. Solution de blanc
Contenu : Un flacon contenant 1,5 ml de sérum humain en tampon phosphate avec un conservateur.
Préparation : Prêt à l'emploi.
Stabilité : Jusqu'à la date de péremption.

6.5. Calibreurs
Contenu : Trois flacons contenant chacun 1,5 ml de sérum humain calibreur en tampon phosphate avec un conservateur. Les valeurs en PGI de ces sérums sont approximativement, 25, 100 et 200 µg/l. Les concentrations exactes en PGI des calibreurs sont indiquées sur chaque flacon.
Préparation : Prêt à l'emploi.
Stabilité : Jusqu'à la date de péremption.

INSTRUCCIONES DE USO

ELISA para Pepsinógeno I — Cat. Nº 601 010.01

CONTENIDO Página

1. USO PREVISTO 42
2. ANTECEDENTES CLÍNICOS 42
3. PRINCIPIO DE LA PRUEBA 42
4. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES 43
5. RECOLECCIÓN Y MANIPULACIÓN DE MUESTRAS 43
6. CONTENIDO DEL CONJUNTO, PREPARACIÓN DEL REACTIVO Y ESTABILIDAD DE LOS MATERIALES PROPORCIONADOS 44
6.1. Microplaca 44
6.2. Concentrado de tampón de lavado (x 10) 44
6.3. Tampón diluyente 44
6.4. Solución blanco 44
6.5. Calibradores 44
6.6. Control 45
6.7. Solución conjugada 45
6.8. Solución de sustrato 45
6.9. Solución de interrupción 45
6.10. Cubiertas de incubación 45
6.11. Instrucciones de uso 45
7. MATERIALES NECESARIOS, PERO NO PROPORCIONADOS 45
8. ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD 46
9. PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA 46
10. RESULTADOS 47
10.1. Valores de control de calidad 47
10.2. Cálculo de los resultados 48
10.3. Prevalencia 49
10.4. Interpretación de los resultados 49
11. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO 49
12. CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO 49
13. FECHA DE EMISIÓN 52
14. GARANTÍA 52
15. REFERENCIAS 65
16. INFORMACIÓN DE PEDIDO 67
17. RESUMEN BREVE DEL PROCEDIMIENTO 72

APÉNDICE: CERTIFICADO DE CONTROL DE CALIDAD

Linéarité :
Trois échantillons de sérum ont été dilués successivement avec le tampon de dilution pour déterminer la linéarité du test Elisa Pepsinogène I Biohit. Les résultats sont inscrits dans le tableau suivant :

Echantillon	Facteur de dilution	Valeur Observée (µg/l)	Valeur Attendue (µg/l)	Récupération
1	1	212.4	-	-
	2	105.4	106.5	99
	4	52.8	53.1	99
2	1	146.4	-	-
	2	72.8	73.2	99
	4	39.3	36.6	107
3	1	59.0	-	-
	2	29.7	29.5	101
	4	14.8	14.7	101

13. DATE DE PUBLICATION

Brochure du coffret Pepsinogène I
Version 01, 1 Aprile 2004.

14. GARANTIE

Le Fabricant devra remédier à tous les défauts découverts dans un produit (« produit défectueux ») qui résulte d'un composant inapproprié ou d'une fabrication défectueuse et qui empêchent le fonctionnement ou l'utilisation du produit notamment, les fonctions conformes aux caractéristiques et spécificités établies par le Fabricant. CEPENDANT LA PRESENTE GARANTIE N'EST PAS APPLICABLE SI LE DEFAULT, ALTERANT OU MODIFIANT LE PRODUIT, A ETE CAUSE NOTAMMENT, PAR UNE UTILISATION IMPROPRE OU ABUSIVE DU PRODUIT, UNE USURE NORMALE, UN DOMMAGE ACCIDENTEL, OU ENCORE UNE CONSERVATION INCORRECTE DU PRODUIT.

La période de la présente garantie octroyée au Distributeur est définie dans la notice d'utilisation des kits et prend effet à compter de la date de livraison du kit par le Fabricant. En cas de litiges, c'est la version anglaise du texte qui s'applique.

Tous les kits diagnostic Biohit ont été fabriqués selon un processus de qualité conforme aux normes ISO 9001 / ISO 13485 et ont subi avec succès les procédures d'Assurance Qualité qui se rapportent à ces produits.

6.6. Contrôle
Contenu : Un flacon contenant 1,5 ml de sérum humain de contrôle avec un conservateur. La concentration attendue en PGI de ce sérum est indiquée sur l'étiquette.
Préparation : Prêt à l'emploi.
Stabilité : Jusqu'à la date de péremption.

6.7. Solution de conjugué
Contenu : 15 ml d'un anticorps monoclonal anti PGI humain, conjugué à la HRP, préparé dans un tampon de stabilisation.
Préparation : Prêt à l'emploi.
Stabilité : Jusqu'à la date de péremption.

6.8. Solution de substrat
Contenu : 15 ml de TMB dans un tampon contenant un conservateur.
Préparation : Prêt à l'emploi.
Stabilité : Jusqu'à la date de péremption. Eviter une exposition directe à la lumière

6.9. Solution d'arrêt
Contenu : 15 ml d'acide sulfurique 0.1mol/l.
Préparation : Prêt à l'emploi.
Stabilité : Jusqu'à la date de péremption.

6.10. Films d'incubation
4 feuilles de plastique pour couvrir la microplaque pendant l'incubation.

6.11. Notice d'utilisation

7. MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI

- Eau distillée ou déionisée.
- Micropipettes et pointes jetables, pour délivrer avec précision des volumes de 20 à 1000 µl.
- Pipettes pour délivrer avec précision des volumes de 1 à 10 ml.
- Pipette à 8 canaux pour délivrer 100 µl.
- Eprouvette graduée, 1000 ml.
- Agitateur de type Vortex.
- Tubes à essai pour dilutions d'échantillons.
- Laveur de plaque de microtitration.
- Papier absorbant.
- Minuteur.
- Incubateur, 37°C.
- Lecteur de plaque de microtitration, 450nm.
- Tubes de prélèvement plastiques pour sérum ou plasma
- Bac à glace

8. CONSERVATION ET STABILITE

Conserver tous les éléments du coffret au réfrigérateur (2-8C°). Dans ces conditions, ils sont stables jusqu'à la date de péremption imprimée sur l'emballage ainsi que sur l'étiquette des différents réactifs. Ne pas congeler ou exposer les réactifs à des températures élevées, ne pas les conserver à plus de 8°C en dehors de leur utilisation. La solution substrat est sensible à la lumière.

La plaque de microtitration ou les barrettes individuelles ne doivent pas être retirées de l'emballage aluminium avant d'avoir atteint la température ambiante (20-25°C). Les barrettes non utilisées doivent être remises dans l'emballage qui sera soigneusement refermé et conservé au frais. Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption imprimée sur l'étiquette. Ne pas interchanger les réactifs de coffrets portant des numéros de lot différents et ne jamais les remplacer par des réactifs de coffrets fournis par d'autres fabricants. Utiliser uniquement de l'eau distillée ou déionisée. Les éléments du coffret sont fournis à des concentrations précises. Toute dilution supplémentaire ou autre modification des réactifs pourrait entraîner l'obtention de résultats incorrects.

Indications de l'altération du coffret
Les composants liquides ne doivent pas être visiblement opalescents ou contenir des éléments précipités. Le tampon de lavage concentré, conservé entre 2 et 8°C, peut toutefois présenter des cristaux qui doivent se dissoudre après homogénéisation à température ambiante (20-25°C). La solution de substrat doit être incolore ou bleu pâle. Toute autre coloration indique une détérioration du substrat.

9. MODE OPERATOIRE

PREPARATIFS
Amener tous les réactifs et la plaque de microtitration à température ambiante (20-25°C). Préchauffer l'incubateur à 37°C. Diluer le tampon de lavage concentré au 1 :10 (ex : 100ml + 900 ml) avec de l'eau distillée ou déionisée. Lire toute la procédure du test avant de commencer. Il est recommandé de doser tous les calibreurs, les contrôles et les échantillons en double sur une même plaque. Le calibreur et les contrôles doivent être utilisés à chaque test.

Bien homogénéiser tous les réactifs avant usage.

DILUTION DES ECHANTILLONS

Les échantillons de sérum ou plasma sont dilués au 1:10 (50 µl + 450 µl) avec le tampon de dilution. Bien homogénéiser.

ETAPE 1
Homogénéiser et distribuer 100 µl de solution de blanc (B), de calibreurs (CAL) de contrôles et d'échantillons dilués (E) dans les puits appropriés, en double (*voir la figure 1*). Recouvrir la plaque d'un film de plastique. Incuber pendant 60 min à 37°C.

Sensibilité :
La sensibilité du test a été déterminée de deux manières:
1) Une série de dilutions du calibreur PGI à 10 µg/l a donné un CV limite de 10 % à une concentration de 0,6 µg/l.
2) La valeur moyenne de 25 réplicats de valeur zéro + 2DS correspond à 1,9 µg/l de PGI.

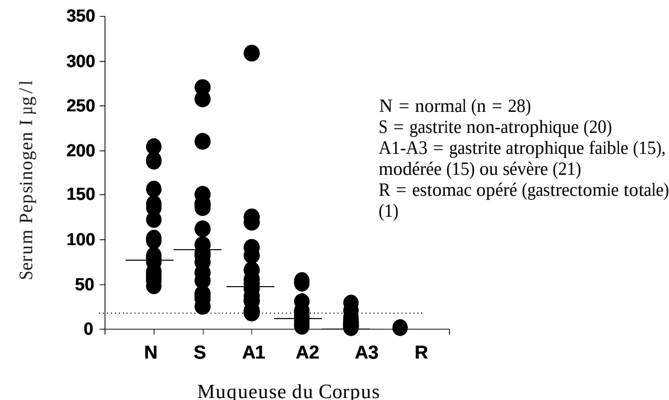
Récupération :
Quatre sérums ont été testés avec du PGI humain ajouté (PGI humain purifié, BIOHIT DIAGNOSTICS) de concentrations déterminées soit C = 6,2 ; 31,0 et 60,8 µg/l.

La récupération moyenne était :

6.2	µg/l	97.5%
31.0	µg/l	89.1%
60.8	µg/l	72.6%

Corrélation
La corrélation entre le taux de PGI et le statut histologique de la muqueuse du corpus a été montrée (18).

Pepsinogène I sérique et muqueuse du Corpus Etude Finlandaise



Reproductibilité :
La reproductibilité du test ELISA PGI Biohit a été déterminée avec quatre sérums de contrôle. Chaque sérum a été dosé en double au cours de 6 tests.

Echantillon	Moyenne globale (µg/l)	CV%
1	10.3	4.9
2	47.4	3.0
3	80.4	3.4
4	133.9	2.9

Spécificité / réaction croisée
La réaction croisée avec le PGII a été testée avec 5 sérums auxquels ont été ajouté des concentrations de PGII (société Z) jusqu'à 200µg/l. Les résultats du test ne montrent aucune augmentation ou diminution significative du signal même avec une concentration en PGII de 200µg/l.

Echantillon	PGII ajouté (mg/l)	PGI mesuré (mg/l)	Déviation (%)
1	-	4.2	-
	10	4.2	100
	50	4.4	105
	200	4.4	105
2	-	26.3	-
	10	24.6	93.5
	50	27.3	104.0
	200	24.5	93.2
3	-	56.2	-
	10	59.6	106.0
	50	60.9	108.0
	200	53.3	94.8
4	-	72.7	-
	10	70.8	97.4
	50	72.5	99.7
	200	71.9	98.9
5	-	100.1	-
	10	98.3	98.2
	50	99.9	99.8
	200	98.7	98.6

Figure 1. Plan de distribution.

	1	2	3	4
A	B	B	E4	E4
B	CAL 1	CAL1	etc...	
C	CAL 2	CAL 2		
D	CAL 3	CAL 3		
E	Contrôle	Contrôle		
F	E1	E1		
G	E2	E2		
H	E3	E3		

LAVAGE
Laver les puits 3 fois avec 350 µl de solution de lavage diluée (1:10) et taper modérément la plaque retournée sur du papier absorbant propre, à plusieurs reprises.

ETAPE II
Homogénéiser et distribuer 100 µl de solution de conjugué homogénéisé dans chaque puits, de préférence à l'aide d'une pipette à 8 canaux. Recouvrir la plaque d'un film de plastique. Incuber pendant 30 min à 37°C.

LAVAGE
Voir la procédure de lavage après l'étape I.

ETAPE III
Homogénéiser et distribuer 100 µl de la solution de substrat homogénéisée dans chaque puits à l'aide d'une pipette à 8 canaux. Déclencher un minuteur après avoir distribué la solution de substrat dans la première barrette et laisser incuber pendant exactement 30 min à température ambiante (20-25°C). Eviter l'exposition directe à la lumière durant l'incubation.

ETAPE IV
Stopper la réaction enzyme / substrat en ajoutant 100 µl de solution d'arrêt dans chaque puits à l'aide d'une pipette à 8 canaux.

LECTURE
Mesurer l'absorbance à 450 nm dans les 30 minutes.

10. RESULTATS

10.1. Valeurs du contrôle qualité
Les Bonnes Pratiques de Laboratoire requièrent l'utilisation d'un sérum de contrôle approprié pour attester du bon déroulement de chaque test. Le sérum de contrôle est inclus dans le coffret ELISA-PGI. Des graphiques de contrôle de qualité devront être

conservé pour suivre les performances du contrôle ou des méthodes statistiques devront être utilisées pour analyser la valeur du contrôle qui doit être comprise dans l'intervalle de confiance approprié, établi par chaque laboratoire.

10.2. Calcul des résultats

Les résultats du test peuvent être analysés par une méthode manuelle a) ou un système automatisé b), où l'absorbance lue sera convertie en concentration de PGI.

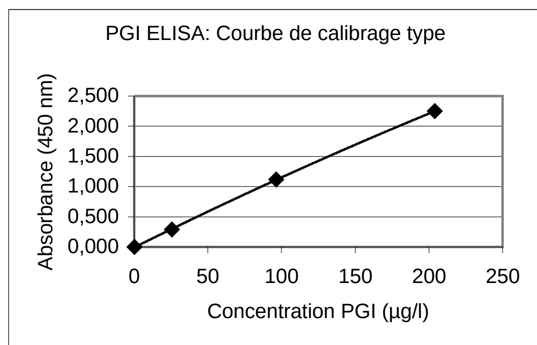
a) Méthode manuelle

Calculer la valeur d'absorbance moyenne pour le blanc, les calibreurs, le contrôle et chaque échantillon, dosés en double. Soustraire de ces valeurs la valeur d'absorbance moyenne du blanc (et considérer zéro comme le premier point de la courbe de calibrage). Tracer le graphe de calibrage en reportant la valeur d'absorbance moyenne de chaque calibreur (axe des ordonnées) en fonction de sa concentration en PGI (axe des abscisses). Tracer la meilleure courbe passant par ces points. Les concentrations en PGI de chaque échantillon et du contrôle sont déterminées par interpolation de leurs valeurs d'absorbance moyenne sur la courbe de calibrage.

b) Système automatisé

De nombreux programmes sont disponibles pour déterminer automatiquement les concentrations à partir de l'absorbance. Un simple polynôme du second degré est suffisant pour déterminer les concentrations incluses dans la gamme des calibreurs. Cependant si la valeur d'absorbance d'un échantillon excède la valeur d'absorbance du calibreur le plus fort, un algorithme d'extrapolation plus complexe doit être utilisé. La figure 2 montre une courbe de calibrage type.

Figure 2 : Exemple de courbe de calibrage.



10.3. Prévalence

Dans une population âgée (plus de 50 ans), 10% des personnes présentent des gastrites atrophiques avancées et des taux anormaux de S-PGI (< 25 µg/l). Une endoscopie de ces patients montre qu'environ 5% sont atteints de cancers gastriques ou de lésions précancéreuses (7).

10.4. Interprétation des résultats

- Un taux de S/P-PGI bas (S/P-PGI < 25 µg/l) indique une gastrite atrophique avancée (modérée à sévère) de la muqueuse du corpus gastrique. Cette valeur a été déterminée avec le coffret ELISA PGI de BIOHIT à partir d'un large panel de prélèvement clinique. Un taux de S/P-PGI bas est une indication pour l'endoscopie gastro-intestinale supérieure (gastroscopie) en raison du risque accru pour ces patients de développer des lésions précancéreuses et des cancers gastriques.
- La valeur limite doit être considérée comme indicative. Aussi les résultats de PGI déterminés pour un échantillon donné avec les tests de différents fabricants peuvent varier à cause de différences de standardisation, de spécificité de la méthode et des réactifs utilisés. Donc les résultats obtenus avec le test d'un autre fabricant ne sont pas interchangeables.
- Ce dosage ELISA PGII permet une large gamme de mesures de S/P-PGI pour de faibles et fortes concentrations.

11. LIMITES DE LA PROCEDURE

De même que pour toutes les procédures de diagnostic, les résultats obtenus avec le test ELISA pour PGI de BIOHIT, doivent être interprétés en corrélation avec le dossier clinique du patient et toutes autres informations disponibles pour le médecin.

Les échantillons susceptibles d'avoir une concentration en PGI supérieure au plus fort des calibreurs devront être dilués davantage avant le test (dilution finale 1 :20).

12. CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES

Répétabilité:

La répétabilité a été déterminée à l'aide de quatre échantillons de contrôle. Les résultats ont été calculés à partir de 17 mesures effectuées au cours du même test.

Echantillon	Concentration PGI moyenne en µg/l	CV%
1	9.3	5.9
2	31.3	3.0
3	78.1	2.4
4	137.2	2.4